

Ročník 2002

---



# SBÍRKA ZÁKONŮ

## ČESKÁ REPUBLIKA

---

Částka 75

Rozeslána dne 20. května 2002

Cena Kč 829,-

---

### O B S A H:

180. 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 pozdějších předpisů
-

## 180

## VYHLÁŠKA

## Ministerstva zdravotnictví

ze dne 22. dubna 2002,

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 pozdějších předpisů

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.:

stavky na jakost, postup při přípravě, zkoušení, uchovávání a dávkování léčiv (Český lékopis 1997), ve znění vyhlášky č. 296/1999 Sb. a vyhlášky č. 48/2001 Sb., se mění takto:

## Čl. I

Vyhláška č. 1/1998 Sb., kterou se stanoví požava-

1. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.1 Přístroje a jiné pomůcky ke zkoušení, kapitola 2.1.5 a kapitola 2.1.6 znějí:

”

## 2.1.5 Zkumavky pro porovnávací zkoušky



2001

Zkumavky pro porovnávací zkoušky jsou zkumavky z bezbarvého skla s jednotným vnitřním průměrem, jejichž dno je ploché a průhledné.

Sloupec kapaliny se pozoruje v rozptýleném světle shora ve směru podélné osy zkumavky proti bílému nebo v případě potřeby černému pozadí.

Předpokládá se použití zkumavek s vnitřním průměrem 16 mm. Mohou být použity i zkumavky s větším vnitřním průměrem za předpokladu, že objem zkoušené kapaliny se zvětší tak, aby výška sloupce ve zkumavce nebyla menší než výška sloupce předepsaného objemu ve zkumavce s vnitřním průměrem 16 mm.

## 2.1.6 Detekční trubičky pro plyny



2001

Detekční trubičky pro plyny jsou zatavené trubičky vyrobené z průhledného inertního materiálu, které umožňují po odlomení zátavů průchod plynu. Obsahují zkoumadla adsorbovaná na inertních nosičích, která jsou vhodná k vizuální detekci sledované látky. Je-li to nutné, mohou obsahovat také předřazené chemické filtry k odstranění látek, které ruší detekci sledované látky. Detekční trubička pro plyny obsahuje buď jedno zkoumadlo pro detekci dané látky, nebo více zkoumadel pro detekci několika různých látek (jednovrstvá nebo vícevrstvá trubička).

Zkouška se provádí průchodem předepsaného objemu zkoušeného plynu detekční trubičkou. Délka zbarvené vrstvy nebo intenzita barevné změny indikuje na dělené stupnici přítomnost sledovaných látek a udává jejich přibližný obsah v plynu.

Kalibrace detekčních trubiček se ověřuje podle instrukcí výrobce.

*Pracovní podmínky.* Zkouška se provádí podle instrukcí výrobce nebo podle následujícího postupu.

Zdroj plynu se připojí k vhodnému regulátoru tlaku a jehlovému ventilu. Ohebná hadička zakončená dílem Y se připojí k jehlovému ventilu a průtok zkoušeného plynu se seřídí tak, aby procházel hadičkou vhodnou rychlostí, viz obrázek 2.1.6-1. Připraví se detekční trubička a připojí se k měřicí pumpičce podle instrukcí výrobce. Volný konec detekční

trubičky se krátkou hadičkou připojí k druhému konci dílu Y. Pumpičkou se provede potřebný počet nasátí plynu tak, aby detekční trubičkou prošel vhodný objem zkoušeného plynu. Odečte se hodnota udaná délkou zabarvené vrstvy nebo intenzitou zabarvení na dělené stupnici. V případě negativního výsledku mohou být detekční trubičky ověřeny pomocí kalibračního plynu, který obsahuje sledovanou látku. Vzhledem k široké škále používaných kompresorových olejů je nezbytné ověřit reaktivitu detekční trubičky pro použitý olej. Informace o reaktivitě různých olejů jsou popsány v letáku dodávaném současně s trubičkou. Pokud není použitý olej v letáku uveden, výrobce trubiček musí ověřit reaktivitu trubičky a, je-li to nutné, určí trubičku specifickou pro tento olej.

*Trubička pro detekci oxidu uhličitého.* Je skleněná zatavená trubička obsahující adsorpční filtry a vhodné nosiče pro hydrazin a violeť krystalovou jako detekční zkoumadla. Nejmenší zjištělná hodnota je  $100 \text{ ml/m}^3$  s relativní směrodatnou odchylkou nejvýše  $\pm 15 \%$ .

*Trubička pro detekci oxidu siřičitého.* Je skleněná zatavená trubička obsahující adsorpční filtry a vhodné nosiče pro jod a škrob jako detekční zkoumadla. Nejmenší zjištělná hodnota je  $0,5 \text{ ml/m}^3$  s relativní směrodatnou odchylkou nejvýše  $\pm 15 \%$ .

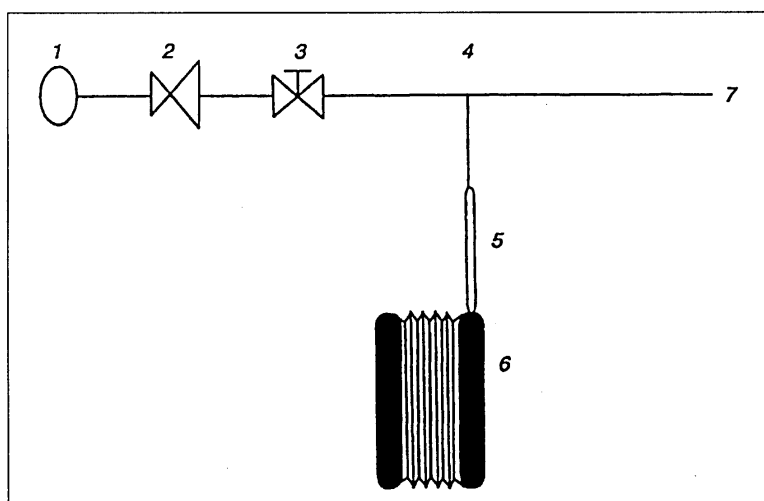
*Trubička pro detekci oleje.* Je skleněná zatavená trubička obsahující adsorpční filtry a vhodné nosiče pro kyselinu sírovou jako detekční zkoumadlo. Nejmenší zjištělná hodnota je  $0,1 \text{ mg/m}^3$  s relativní směrodatnou odchylkou nejvýše  $\pm 30 \%$ .

*Trubička pro detekci oxidu dusnatého a oxidu dusičitého.* Je skleněná zatavená trubička obsahující adsorpční filtry a vhodné nosiče pro oxidační vrstvu (sůl šestimocného chromu) a pro difenylbenzidin jako detekční zkoumadla. Nejmenší zjištělná hodnota je  $0,5 \text{ ml/m}^3$  s relativní směrodatnou odchylkou nejvýše  $\pm 15 \%$ .

*Trubička pro detekci oxidu uhelnatého.* Je skleněná zatavená trubička obsahující adsorpční filtry a vhodné nosiče pro oxid jodičný, oxid seleničitý a kyselinu sírovou jako detekční zkoumadla. Nejmenší zjištělná hodnota je  $5 \text{ ml/m}^3$  (popř. méně) s relativní směrodatnou odchylkou nejvýše  $\pm 15 \%$ .

*Trubička pro detekci sirovodíku.* Je skleněná zatavená trubička obsahující adsorpční filtry a vhodné nosiče pro olovnatou sůl jako detekční zkoumadlo. Nejmenší zjištělná hodnota je  $1 \text{ ml/m}^3$  (popř. méně) s relativní směrodatnou odchylkou nejvýše  $\pm 10 \%$ .

*Trubička pro detekci vodních par.* Je skleněná zatavená trubička obsahující adsorpční filtry a vhodné nosiče pro chloristan hořečnatý jako detekční zkoumadlo. Nejmenší zjištělná hodnota je  $67 \text{ ml/m}^3$  (popř. méně) s relativní směrodatnou odchylkou nejvýše  $\pm 20 \%$ .



**Obr. 2.1.6-1** Schéma detekční trubičky pro plyny

- |                     |  |
|---------------------|--|
| 1. zdroj plynu,     | 5. detekční trubička,                      |
| 2. regulátor tlaku, | 6. pumpička pro prosávání plynu trubičkou, |
| 3. jehlový ventil,  | 7. výstup do atmosféry.                    |
| 4. spojovací díl Y, |  |

“

2. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.2 Fyzikální a fyzikálně-chemické metody, kapitola 2.2.4 zní:

”

### 2.2.4 Vztah mezi reakcí roztoku, přibližnými hodnotami pH a zbarvením některých indikátorů



2001

K 10 ml zkoušeného roztoku se přidá 0,1 ml indikátoru, pokud není předepsáno v tabulce 2.2.4-1 jinak.

Tab. 2.2.4-1

Reakce	pH	Indikátor	Zbarvení
zásaditá	> 8	<i>papír lakmusový červený R</i> <i>modř thymolová RS (0,05 ml)</i>	modré šedé nebo fialově modré
slabě zásaditá	8,0 - 10,0	<i>fenolftalein RS (0,05 ml)</i> <i>modř thymolová RS (0,05 ml)</i>	bezbarvé nebo růžové šedé
silně zásaditá	> 10	<i>papír s fenolftaleinem R</i> <i>modř thymolová RS (0,05 ml)</i>	červené fialově modré
neutrální	6,0 - 8,0	<i>červeň methylová RS</i> <i>červeň fenolová RS (0,05 ml)</i> <i>červeň methylová RS</i>	žluté oranžově červené
neutrální na červeň methylovou neutrální na fenolftalein	4,5 - 6,0 < 8,0	<i>fenolftalein RS (0,05 ml)</i>	bezbarvé; růžové nebo červené po přidání 0,05 ml zásady 0,1 mol/l
kyselá	< 6	<i>červeň methylová RS</i> <i>modř bromthymolová RS1</i>	oranžově nebo červené žluté
slabě kyselá	4,0 - 6,0	<i>červeň methylová RS</i> <i>zeleň bromkresolová RS</i>	oranžové zelené nebo modré
silně kyselá	< 4	<i>papír s červení Kongo R</i>	zelené nebo modré

“

3. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.2 Fyzikální a fyzikálně-chemické metody, kapitola 2.2.27 až kapitola 2.2.30 znějí:

”

### 2.2.27 Tenkovrstvá chromatografie



2001

Tenkovrstvá chromatografie je separační metoda, u které stacionární fázi tvoří vhodný materiál nanesený v rovnoměrné tenké vrstvě na skleněný, kovový nebo plastový podklad (desku). Roztoky stanovovaných látek se na vrstvu nanášejí před vyvíjením. Dělení (separace) je založeno na adsorpci, rozdělení, iontové výměně nebo na kombinaci

těchto mechanismů a dochází k němu migrací (vyvíjením) rozpuštěných látek v rozpouštědle nebo vhodné směsi rozpouštědel (mobilní fáze) tenkou vrstvou (stacionární fáze).

## Zařízení

**Desky.** Chromatografie se provádí za použití desek předem potažených vrstvou, popsanych ve stati Zkoumadla (4.1.1). *Předběžná úprava vrstev.* Před dělením mohou být vrstvy, je-li třeba, promyty, např. může být provedeno vyvíjení vhodným rozpouštědlem. Vrstvy mohou být rovněž impregnovány vyvíjením, ponořením nebo postřikem. Je-li nutné, vrstvy je možno před použitím aktivovat zahříváním v sušárně při 100 °C až 105 °C po dobu 1 h.

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

**Mikropipety, mikrostřikačky (injekční), kalibrované kapiláry** pro jedno použití nebo jiné nanášecí zařízení, které je vhodné pro správné nanášení roztoků.

**Fluorescenční detekční zařízení** pro přímé hodnocení fluorescence nebo zhášení fluorescence.

**Detekční čidla** pro detekci oddělených skvrn postřikem, vystavením vlivu par nebo ponořením.

## Pracovní postup

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

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

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

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

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

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

## Vizuální hodnocení

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

**Retenční faktor ( $R_F$ )** je definován jako poměr vzdálenosti středu skvrny ke vzdálenosti čela mobilní fáze, měřeno od místa nanášení.

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

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

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

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

## Kvantitativní stanovení

Požadavky na rozlišení a dělení jsou uvedeny v jednotlivých člácích.

Látky oddělené tenkovrstvou chromatografií a detegovatelné v ultrafialové nebo viditelné oblasti spektra mohou být stanoveny přímo na desce s vrstvou za použití vhodného přístrojového vybavení. Deska s vrstvou se hodnotí měřením reflektance nebo transmitance dopadajícího světla, přičemž se pohybuje buď deska, nebo měřicí zařízení. Podobně za použití vhodného optického systému může být měřena fluorescence. Látky obsahující radionuklidy mohou být kvantifikovány třemi způsoby: buď přímým měřením radioaktivity podél celého chromatogramu (viz *Radiofarmaca*) nebo po rozstříhání desky na proužky měřením radioaktivity každého jednotlivého proužku za použití vhodného detektoru, a/nebo po seškrabání stacionární fáze a rozpuštění ve vhodné scintilační kapalině měřením její radioaktivity za použití kapalinového scintilačního detektoru.

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

- ze zařízení pro přesné umístění a reprodukovatelné dávkování množství látek na vrstvu,
- z mechanického zařízení pro pohyb desky nebo měřicího zařízení ve směru osy *x* nebo osy *y*,
- ze zapisovače a vhodného integrátoru nebo počítače,
- pro látky detegovatelné v ultrafialové nebo viditelné oblasti spektra: pro měření reflektance nebo transmitance fotometr se zdrojem světla, optické zařízení schopné generovat monochromatické světlo a fotoelektrický článek odpovídající citlivosti; pro měření fluorescence kromě toho monochromatický filtr pro vyčlenění určité spektrální oblasti emitovaného záření,
- pro látky obsahující radionuklidy: vhodné zařízení pro měření radioaktivity, u kterého je ověřena oblast linearity.

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

*Látky detegovatelné v ultrafialové a viditelné oblasti spektra.* Připraví se a nanesou se nejméně tři porovnávací roztoky, v nichž jsou koncentrace zkoušené látky v rozpětí jejího očekávaného obsahu ve zkoušeném roztoku (asi 80 %, 100 % a 120 %). Po skončení vyvíjení se postříká, je-li třeba, předepsaným činidlem a zaznamená se reflektance, transmitance nebo fluorescence chromatogramů zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků. Naměřené hodnoty se použijí pro výpočet množství látky ve zkoušeném roztoku.

*Látky obsahující radionuklidy.* Připraví se a nanesou se zkoušený roztok, jehož koncentrace je asi 100 % očekávané hodnoty. Radioaktivita se stanoví jako funkce délky dráhy a radioaktivity každého výsledného píku a vyjádří se jako procento z celkového množství radioaktivity.

Kritéria pro posouzení způsobilosti systému jsou popsána ve stati Chromatografické separační metody (2.2.46). Rozsah, ve kterém se mohou pohybovat jednotlivé parametry chromatografického systému tak, aby byla splněna kritéria způsobilosti systému, je rovněž uveden v této stati.

### 2.2.28 Plynová chromatografie



Plynová chromatografie (GC) je separační metoda založená na rozdílu v distribuci látek mezi dvě nemísitelné fáze: mobilní fází je nosný plyn, pohybující se skrz nebo podél stacionární fáze, která je umístěna v koloně. Je použitelná na látky nebo jejich deriváty, které lze převést do plynné fáze za použitých teplot.

Plynová chromatografie je založena na mechanismu adsorpce, rozdělování nebo vylučování.

## Přístroj

Přístroj se skládá z dávkovacího zařízení, chromatografické kolony umístěné v termostatu, detektoru a systému na zpracování dat (nebo integrátoru, popřípadě zapisovače). Nosný plyn protéká kolonou kontrolovanou rychlostí nebo při kontrolovaném tlaku do detektoru.

Stanovení se provádí buď při konstantní teplotě, nebo podle daného teplotního programu.

## Dávkovací zařízení

*Přímé nástřiky* roztoků jsou obvyklým způsobem dávkování, pokud není v článku uvedeno jinak. Nástřik může být prováděn buď přímo na začátek kolony za použití stříkačky nebo dávkovací smyčky, nebo do vstřikovací komůrky, která může být opatřena děličem toku.

*Nástřiky plynné fáze* mohou být prováděny pomocí statických nebo dynamických head-space dávkovacích systémů.

*Dynamické head-space* dávkovací systémy pro adsorpci a desorpci obsahují probublávací zařízení, pomocí kterého jsou těkavé látky uvolňovány z roztoku a vyplavovány do adsorpční kolony udržované na nízké teplotě. Zadržené látky jsou pak desorbovány do mobilní fáze rychlým ohřátím adsorpční kolony.

*Statické head-space* dávkovací systémy obsahují termostátovanou komůrku, do které se vkládají uzavřené nádoby, obsahující pevné nebo kapalné vzorky na předem stanovenou dobu, potřebnou k ustavení rovnováhy těkavých složek vzorku mezi pevnou nebo kapalnou fází a plynnou fází. Po dosažení této rovnováhy je předem určené množství plynné fáze z lahvičky dávkováno do plynového chromatografu.

## Stacionární fáze

Stacionární fáze jsou umístěny v kolonách, které mohou být:

- křemenné kapilární kolony, na jejichž stěnách jsou naneseny stacionární fáze,
- kolony naplněné inertními částicemi impregnovanými stacionární fází,
- kolony naplněné pevnou stacionární fází.

Kapilární kolony mají vnitřní průměr 0,1 mm až 0,53 mm a délku 5 m až 60 m. Kapalná stacionární fáze, která může být chemicky vázaná na vnitřní povrch kolony tvoří film 0,1  $\mu\text{m}$  až 5,0  $\mu\text{m}$  silný.

Náplňové kolony vyrobené ze skla nebo z kovu jsou obvykle 1 m až 3 m dlouhé s vnitřním průměrem 2 mm až 4 mm. Stacionární fáze jsou nejčastěji porézní polymery nebo tuhé nosiče impregnované kapalnou fází.

Nosiče pro analýzu polárních látek v kolonách se stacionárními fázemi nízké polaritativy a s nízkým pokrytím musí být inertní, aby se předešlo chvostování píků. Reaktivita materiálů, z nichž je vyroben nosič, může být snížena silanizací, která předchází jejich pokrytí kapalnou fází. Často se používají kyselě prané žárově kalcinované diatomitové křemeliny. Nosiče mají různou velikost částic. Nejběžněji používané jsou částice v rozmezí velikostí 150  $\mu\text{m}$  až 180  $\mu\text{m}$  a 125  $\mu\text{m}$  až 150  $\mu\text{m}$ .

## Mobilní fáze

Retenční čas dané složky a účinnost kolony závisí na průtokové rychlosti nosného plynu; retenční čas je přímo úměrný délce kolony a rozlišení je úměrné druhé odmocnině délky kolony. Pro náplňové kolony se obvykle průtoková rychlost nosného plynu vyjadřuje v mililitrech za minutu při atmosférickém tlaku a pokojové teplotě a měří se na výstupu z detektoru, buď kalibrovaným mechanickým zařízením, nebo bublinkovým průtokoměrem, zatímco kolona je termostátována na pracovní teplotu. Lineární průtoková rychlost nosného plynu náplňovou kolonou je nepřímo úměrná druhé odmocnině z vnitřního průměru kolony při dané objemové průtokové rychlosti. Průtokové rychlosti 60 ml/min v koloně o vnitřním průměru 4 mm a 15 ml/min v koloně o vnitřním průměru 2 mm dávají stejné lineární rychlosti a tudíž podobné retenční časy.

Nejčastěji používanými nosnými plyny pro náplňové kolony jsou helium nebo dusík, zatímco pro kapilární kolony dusík, helium a vodík.

## Detektory

Obvykle se používají plamenoionizační detektory, ale podle účelu analýzy mohou být použity i další detektory: elektronového záchytu, dusíko-fosforový, hmotnostní spektrometr, tepelně vodivostní, spektrofotometr v infračervené oblasti s Fourierovou transformací a jiné.

## Pracovní postup

Kolona, dávkovací zařízení a detektor se stabilizují při teplotách a průtocích plynů předepsaných v lékopisných člancích, pokud není dosaženo stabilní nulové linie. Připraví se roztok(y) zkoušené látky a porovnávací roztok(y), jak je předepsáno. Roztoky musí být prosty pevných částic.

Kritéria pro posouzení vhodnosti systému jsou popsána ve stati Chromatografické separační metody (2.2.46). V této stati je rovněž uveden rozsah, v jakém mohou být nastaveny parametry chromatografického systému, aby byly splněny požadavky testu způsobilosti.

## Statická head-space plynová chromatografie

Head-space plynová chromatografie je metoda zvláště vhodná pro dělení a stanovení těkavých látek přítomných v pevných nebo kapalných vzorcích. Tato metoda je založena na analýze plynné fáze, která je v rovnováze s pevnou nebo kapalnou fází.

## Přístroj

Přístroj se skládá z plynového chromatografu opatřeného zařízením pro zavádění zkoušeného vzorku, které může být připojeno k modulu, jenž automaticky ovládá tlak a teplotu. Je-li to nutné, může být připojeno zařízení pro eliminaci rozpouštědel.

Analyzovaný vzorek se vpraví do lahvičky opatřené vhodným uzávěrem a systémem ventilů umožňujícím průchod nosného plynu. Lahvička se umístí do termostátované nádoby vyhřívané na vhodnou teplotu podle povahy zkoušeného vzorku.

Vzorek se zahřívá na tuto teplotu dostatečně dlouho, aby se ustavila rovnováha mezi pevnou nebo kapalnou fází a plynnou fází.

Nosný plyn se zavádí do nádoby a po předepsaném čase se otevře vhodný ventil, takže plyn expanduje a unáší zplyněné látky do chromatografické kolony.

Místo chromatografu speciálně vybaveného pro zavádění vzorků je též možné použít plynotěsnou stříkačku a běžný chromatograf. Ustavení rovnováhy pak probíhá v oddělené komůrce a plynná fáze se dávákuje do kolony při zajištění podmínek zaručujících, že nedojde k porušení rovnováhy.

## Pracovní postup

Použitím porovnávacích vzorků se určí vhodné instrumentální podmínky k dosažení vhodné odezvy.

## Přímá kalibrace

Do stejných lahviček se umístí odděleně zkoušený vzorek a všechny porovnávací vzorky, jak je předepsáno v lékopisném článku, přičemž se zabrání kontaktu mezi dávkovacím zařízením a vzorky.

Lahvičky se hermeticky uzavřou a vloží do termostátovaného prostoru udržovaného na teplotě a tlaku předepsaných v článku; po ustavení rovnováhy se provede chromatografická analýza za předepsaných podmínek.



## Standardní přídavek

Do sady stejných vhodných lahvíček se umístí stejné objemy zkoušeného vzorku. Do všech lahvíček, kromě jedné, se přidají vhodná množství porovnávacích vzorků, které obsahují známé koncentrace stanovované látky, takže vznikne řada vzorků obsahujících postupně vzrůstající koncentrace stanovované látky.

Lahvičky se hermeticky uzavřou a vloží se do termostátovaného prostoru udržovaného na teplotě a tlaku předepsaných v lékopisném článku. Po ustavení rovnováhy se provede chromatografická analýza za předepsaných podmínek.

Metodou nejmenších čtverců se vypočítá lineární rovnice přímky a z ní se určí koncentrace stanovované látky ve zkoušeném vzorku.

Alternativně se vynesou do grafu střední hodnoty naměřených dat proti přidaným množstvím stanovované látky. Extrapoluje se přímka spojující body na grafu, až protne osu koncentrací. Vzdálenost mezi tímto bodem a průsečíkem os představuje koncentraci stanovované látky ve zkoušeném vzorku.

## Postupný odběr (opakovaná head-space extrakce)

V případě, že je požadována metoda postupného odběru, je podrobně popsána v lékopisném článku.

### 2.2.29 Kapalinová chromatografie



2001

Kapalinová chromatografie (LC) je separační metoda založená na rozdílu v distribuci látek mezi dvě nemísitelné fáze, z nichž mobilní fází je kapalina, která prostupuje stacionární fází naplněnou do kolony.

LC je založena zejména na mechanismu adsorpce, rozdělování, výměny iontů, vylučování nebo stereochemických interakcích.

## Přístroj

Přístroj se skládá z čerpacího systému, dávkovacího zařízení, chromatografické kolony (může být použit i regulátor teploty kolony), detektoru a zařízení na zpracování dat (nebo integrátoru či zapisovače). Mobilní fáze je do systému přiváděna z jednoho nebo více zásobníků a protéká obvykle konstantní rychlostí kolonou a poté detektorem.

## Čerpací systémy

LC čerpací systémy jsou potřebné pro přivádění mobilní fáze konstantní průtokovou rychlostí. Kolísání tlaku má být co nejmenší, čehož se dosahuje např. průchodem tlakovaného rozpouštědla zařízením na tlumení pulzů. Hadičky a všechny spoje musí být schopny odolat tlaku vyvinutému čerpacím systémem. LC čerpací systémy mohou být vybaveny zařízením pro odstranění uvolněných bublin vzduchu.

Systémy ovládané mikroprocesory jsou schopny přesně přivádět mobilní fázi buď s konstantním složením (izokratiká eluce), nebo se složením, které se mění podle předem daného programu (gradientová eluce). V případě gradientové eluce se používají čerpací systémy, které dodávají rozpouštědlo či rozpouštědla z více zásobníků a mísení rozpouštědel se dosahuje buď před natlakováním, nebo v tlakované části čerpadla nebo čerpadel.

## Dávkovací zařízení

Roztok vzorku se dávkuje do protékající mobilní fáze na horní konec kolony nebo blízko něj pomocí dávkovacího zařízení, které je schopno pracovat při vysokém tlaku. Používají se zařízení s dávkovací smyčkou o konstantním nebo proměnném objemu pro ruční nebo automatické dávkovače. Ruční dávkování s částečně naplněnou smyčkou může způsobit horší přesnost nastřikovaného objemu.

## Stacionární fáze

V LC se používá mnoho typů stacionárních fází, jako jsou:

- silikagel, oxid hlinitý nebo porézní grafit používané v chromatografii s normálními fázemi, kde je separace založena na rozdílech v adsorpci a/nebo rozdělování,
- pryskyřice nebo polymery s kyselými nebo zásaditými skupinami používané v iontoměničové chromatografii, kde je separace založena na konkurenci iontů, které mají být odděleny, a iontů, které jsou obsaženy v mobilní fázi,
- porézní silikagel nebo polymery používané ve vylučovací chromatografii, kde separace je založena na rozdílech v objemech molekul,
- různé druhy chemicky modifikovaných nosičů připravených z polymerů, silikagelu nebo porézního grafitu používané v chromatografii s obrácenými fázemi, kde je separace založena hlavně na rozdělování molekul mezi mobilní a stacionární fázi,
- speciální chemicky modifikované stacionární fáze, např. deriváty celulosy nebo amylosy, bílkoviny nebo peptidy, cyklohextriny atd. používané pro separaci enantiomerů (chirální chromatografie).

Většina separací je založena na mechanismu rozdělování a využívá chemicky modifikovaný silikagel jako stacionární fázi a polární rozpouštědlo jako mobilní fázi. Povrch nosiče, např. silanolové skupiny silikagelu, se upravuje reakcí s různými silanizačními činidly za vzniku kovalentně vázaných silylových derivátů, které pokrývají proměnlivé množství aktivních míst na nosiči. Povaha vázané fáze je důležitým parametrem pro stanovení separačních vlastností chromatografického systému.

Běžně užívané vázané fáze jsou uvedeny níže:

oktyl	= Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> -CH <sub>3</sub>	C <sub>8</sub>
oktadecyl	= Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>17</sub> -CH <sub>3</sub>	C <sub>18</sub>
fenyl	= Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> -(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
kyanpropyl	= Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -CN	CN
aminopropyl	= Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub>
diol	= Si-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> .OCH(OH)-CH <sub>2</sub> -OH	

Pokud není výrobcem uvedeno jinak, předpokládá se, že kolony pro chromatografii s obrácenými fázemi s náplní na bázi silikagelu jsou stabilní v mobilních fázích o zdánlivém pH 2,0 až 8,0. Kolony plněné porézním grafitem nebo částicemi polymerních materiálů jako je styrendivinybenzen-kopolymer, jsou stabilní v širším rozsahu pH.

V některých případech je vhodná chromatografie s normálními fázemi, která využívá jako stacionární fázi nemodifikovaný silikagel, porézní grafit nebo polárními skupinami chemicky modifikovaný silikagel, např. se skupinami kyanpropylovými nebo diolovými, v kombinaci s nepolární mobilní fází.

Pro analytické separace se běžně používají stacionární fáze, které mají velikost částic 3 μm až 10 μm. Částice mohou mít sférický nebo nepravidelný tvar, různou porozitu a specifický povrch. Tyto parametry přispívají k chromatografickému chování jednotlivých stacionárních fází. V případě obrácených fází jsou doplňujícími charakteristikami stacionární fáze její druh, stupeň navázání vyjádřený např. jako obsah vázaného uhlíku, údaj o případném odstranění povrchových silanolových skupin. Jestliže stacionární fáze obsahuje zbytkové povrchové silanolové skupiny, mohou analyzované látky, zejména bazické, vykazovat chvostování piků.

V analytické chromatografii se používají kolony vyrobené z nerezové oceli, pokud není v článku uvedeno jinak. Mají různé délky a vnitřní průměry. Kolony s vnitřním průměrem menším než 2 mm jsou často označovány jako mikrokolony. Během analýzy musí být udržována konstantní teplota mobilní fáze a kolony. Většina separací se provádí při pokojové teplotě, ale kolony mohou být také zahřívány na vyšší teplotu pro dosažení vyšší účinnosti. Doporučuje se, aby kolony nebyly zahřívány na teplotu vyšší než 60 °C vzhledem k nebezpečí degradace stacionární fáze nebo změn ve složení mobilní fáze.

## Mobilní fáze

V chromatografii s normálními fázemi se používají méně polární mobilní fáze. Aby se dosáhlo reprodukovatelných výsledků, je nutné přísně kontrolovat přítomnost vody v mobilní fázi. V chromatografii s obrácenými fázemi se používají vodné mobilní fáze jak s organickým rozpouštědlem, tak bez něj.

Složky mobilní fáze se obvykle filtrují, aby z nich byly odstraněny částice větší než 0,45 μm. Vícesložkové mobilní fáze se připravují odměřením požadovaných objemů (pokud nejsou předepsány hmotnosti) jednotlivých složek a jejich smícháním. Jinou možností je přivádět rozpouštědla pomocí jednotlivých čerpadel ovládaných ventily, které umožňují míchání složek v požadovaném poměru. Rozpouštědla jsou před čerpáním do systému obvykle odplyňována probublá-

váním heliem, v ultrazvukové lázni nebo se používají membránová či vakuová zařízení zařazená přímo do systému, která zabráňují tvorbě bublin v detektoru.

Rozpouštědla pro přípravu mobilní fáze obvykle neobsahují stabilizátory a jsou propustná pro vlnovou délku používanou při detekci v ultrafialové oblasti spektra. Používaná rozpouštědla a jiné složky mobilní fáze mají mít vhodnou kvalitu. Pokud je nutné nastavení pH, provádí se pouze s vodnou částí mobilní fáze, nikoli s celou směsí. Jestliže se používají tlumivé roztoky, systém se po dokončení chromatografických analýz patřičně promyje směsí vody a organického rozpouštědla použitého v mobilní fázi (5 % (V/V)), aby se zabránilo krystalizaci solí.

Mobilní fáze mohou obsahovat další složky, např. protioity u chromatografie iontových párů nebo chirální selektor v případě chromatografie s achirální stacionární fází.

## Detektory

Nejběžněji používanými detektory jsou spektrofotometry pro měření v ultrafialové a viditelné oblasti (UV/Vis), včetně detektorů s diodovým polem. Mohou být také použity fluorescenční spektrofotometry, diferenční refraktometry, elektrochemické detektory, hmotnostní spektrometry, detektory na bázi rozptylu světla nebo měření radioaktivity a jiné speciální detektory.

## Pracovní postup

S předepsanou mobilní fází a s průtokovou rychlostí se při pokojové teplotě nebo teplotě stanovené v lékopisném článku uvede kolona do rovnováhy, při níž je dosaženo stability základní linie.

Připraví se roztok či roztoky zkoušené látky a porovnávací roztok nebo roztoky. Roztoky nesmí obsahovat pevné částice.

Kritéria pro posouzení vhodnosti systému jsou popsána ve stati Chromatografické separační metody (2.2.46). V této stati je také uveden rozsah, v němž mohou být nastaveny parametry chromatografického systému, aby se splnily požadavky testu způsobilosti.

### 2.2.30 Vylučovací chromatografie



2001

Vylučovací chromatografie je separační metoda, která rozděluje molekuly podle jejich velikosti. Pokud se používá organická mobilní fáze, je metoda známa jako gelová chromatografie, používá-li se vodná mobilní fáze, nazývá se tato metoda gelová filtrace.

Vzorek se vnáší na kolonu, která je naplněna gelem nebo náplní tvořenou porézními částicemi a je unášen mobilní fází. K dělení podle velikosti molekul dochází opakovanou výměnou molekul rozpuštěných látek mezi rozpouštědlem v mobilní fázi a stejným rozpouštědlem v nepohyblivé (stagnantní) kapalně fázi uvnitř pórů náplně (stacionární fáze). Rozmezí velikostí pórů náplně určuje rozmezí velikostí molekul, pro něž lze dosáhnout separace.

Molekuly, které jsou tak malé, že mohou proniknout do všech pórů, jsou eluovány celkovým permeačním objemem ( $V_T$ ). Naproti tomu molekuly větší než největší póry náplně migrují kolonou pouze v prostoru mezi částicemi náplně, aniž by byly jakkoliv zadržovány, a jsou eluovány vylučovacím objemem ( $V_0$ , neboli mrtvý objem). K separaci podle velikosti molekul dochází mezi vylučovacím a celkovým permeačním objemem, přičemž použitelného dělení se obvykle dosahuje v prvních dvou třetinách tohoto rozmezí.

*Zařízení.* Základem zařízení je chromatografická kolona různé délky a vnitřního průměru, v případě potřeby termostatovaná, naplněná separačním materiálem schopným dělení v příslušném rozsahu velikosti molekul, kterou protéká eluent konstantní rychlostí. Jeden konec kolony je obvykle připojen ke vhodnému zařízení pro nástřik vzorku, jako je průtokový adaptér, dávkovač se septem nebo dávkovací smyčka, a může být také připojen ke vhodnému čerpadlu pro regulaci průtoku eluentu. Případně může být vzorek nastříkán přímo na povrch náplně kolony zbavené kapaliny, nebo je-li vzorek hustší než eluent, může být navrstven pod eluent. Výstup z kolony je obvykle připojen k vhodnému detektoru spojenému s automatickým zapisovačem, který umožňuje záznam relativních koncentrací separovaných složek vzorku. Detektory obvykle využívají fotometrické, refraktometrické nebo luminiscenční vlastnosti. V případě potřeby může být připojen automatický sběrač frakcí.

Náplň může být měkký nosič, jako je nabobtnalý gel, nebo tuhý nosič tvořený sklem, silikagelem nebo zesíťovaným organickým polymerem kompatibilním s rozpouštědlem. Tuhé nosiče obvykle vyžadují tlakované systémy, umožňující rychlejší separace. Mobilní fáze je volena podle typu vzorku, separačního prostředí a způsobu detekce. Před provedením separace se náplň upraví a naplní do kolony tak, jak je popsáno v článku nebo podle návodu výrobce.

Kritéria pro posouzení vhodnosti systému jsou popsána ve stati Chromatografické separační metody (2.2.46). V této stati je uveden rozsah, v němž mohou být nastaveny parametry chromatografického systému, aby byly splněny požadavky testu způsobilosti.

### Stanovení relativního zastoupení složek ve směsích

Provede se separace podle lékopisného článku. Pokud je to možné, zaznamenává se plynule eluce složek a měří se odpovídající plochy píků. Jestliže se separace složek vzorku zaznamenává prostřednictvím fyzikálně-chemické vlastnosti, k níž všechny sledované složky přispívají ekvivalentními odezvami (např. všechny složky mají stejnou specifickou absorbanci), vypočte se relativní množství každé složky tak, že se plocha píku dané složky dělí součtem ploch píků všech sledovaných složek. Jestliže se tyto odezvy u jednotlivých složek liší, vypočte se obsah za pomoci kalibračních křivek získaných s kalibračními standardy, které jsou předepsány v lékopisném článku.

### Stanovení molekulových hmotností

Vylučovací chromatografie může být použita pro stanovení molekulových hmotností porovnáním s vhodnými kalibračními standardy, které jsou předepsány v lékopisném článku. Retenční objemy kalibračních standardů se vynášejí v závislosti na logaritmu molekulových hmotností těchto standardů. Graf se obvykle blíží přímce v oblasti mezi vylučovacím objemem a celkovým permeačním objemem pro použité separační prostředí. Z kalibrační křivky se stanoví molekulové hmotnosti. Kalibrační křivka pro molekulové hmotnosti platí pouze pro daný systém makromolekulární látka - rozpouštědlo, který byl použit za předepsaných experimentálních podmínek.

### Stanovení distribuce velikostí molekul polymerů

Vylučovací chromatografie může být použita pro stanovení distribuce velikostí molekul polymerů. Porovnání vzorků je však platné pouze v případě, že jsou výsledky získány za stejných experimentálních podmínek. Porovnávací látky použité pro kalibraci a metody stanovení distribuce velikostí molekul jsou uvedeny v daném lékopisném článku.

“

4. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.2 Fyzikální a fyzikálně-chemické metody se za kapitolu 2.2.44 doplňuje kapitola 2.2.45 až kapitola 2.2.47, které znějí:

”

#### 2.2.45 Superkritická fluidní chromatografie

Superkritická fluidní chromatografie (SFC) je separační metoda, kde mobilní fází je kapalina v superkritickém nebo v subkritickém stavu. Stacionární fází v koloně jsou buď jemně rozptýlené pevné částice (jako je silikagel nebo porézní grafit), chemicky modifikované stacionární fáze, které se používají v kapalinové chromatografii, nebo v kapilárních kolonách chemicky vázané kapalně stacionární fáze.

SFC je založena na mechanismu adsorpce nebo rozdělování.



2001

## Přístroj

Přístroj se obvykle skládá z chlazeného čerpacího systému, dávkovacího zařízení, chromatografické kolony opatřené termostatem, detektoru, regulátoru tlaku a zařízení na zpracování dat (nebo integrátoru nebo zapisovače).

## Čerpací systémy

Čerpací systémy musí zaručovat konstantní průtokovou rychlost mobilní fáze. Aby bylo minimalizováno kolísání tlaku, je systém vybaven zařízením na tlumení pulzů natlakované mobilní fáze. Hadičky a všechny spoje musí být schopny odolat tlaku vyvinutému čerpacím systémem.

Systémy kontrolované mikroprocesorem jsou schopné přesně přivádět mobilní fázi buď za konstantních, nebo měnících se podmínek v souladu se zadaným programem. V případě gradientové eluce se používá čerpací systém, který přivádí rozpouštědlo (rozpuštědla) z příslušných zásobníků. Míchání rozpouštědel probíhá buď na nízkotlaké, nebo vysokotlaké straně čerpadla (čerpadel).

## Dávkovací zařízení

Nástřik se provádí přímo na začátek kolony dávkovacím ventilem.

## Stacionární fáze

Stacionární fáze jsou v kolonách, které byly popsány ve statích Kapalinová chromatografie (2.2.29) (náplňové kolony) a Plynová chromatografie (2.2.28) (kapilární kolony). Kapilární kolony mají vnitřní průměr nejvýše 100  $\mu\text{m}$ .

## Mobilní fáze

Obvykle se používá oxid uhličitý, který někdy obsahuje polární modifikátory, jako je methanol, 2-propanol nebo acetonitril. Složení, tlak (hustota), teplota a průtoková rychlost předepsané mobilní fáze jsou buď konstantní po celou dobu chromatografického postupu (izokratická, izodenzitická, izotermická eluce), nebo se mohou měnit podle definovaného programu (gradientová eluce modifikátoru, tlaku (hustoty), teploty nebo průtokové rychlosti).

## Detektory

Nejběžněji používanými detektory jsou spektrofotometry v ultrafialové a viditelné oblasti (UV/VIS) a plamenoionizační detektory. Lze též používat detektory rozptylu světla, spektrofotometry absorbující v infračervené oblasti, tepelně vodivostní detektory nebo jiné speciální detektory.

## Pracovní postup

Připraví se zkoušený(é) roztok(y) a porovnávací roztok(y) způsobem popsaným v lékopisném článku. Roztoky nesmí obsahovat pevné částice.

Kritéria pro posouzení vhodnosti systému jsou popsána ve stati Chromatografické separační metody (2.2.46). V této stati je rovněž uveden rozsah, v jakém mohou být nastaveny parametry chromatografického systému, aby se splnily požadavky testu způsobilosti.



## 2.2.46 Chromatografické separační metody

Chromatografické separační metody jsou vícestupňové separační metody, kde složky vzorku jsou rozdělovány mezi dvě fáze, z nichž jedna je stacionární a druhá je mobilní. Stacionární fázi může být pevná látka nebo kapalina nanesená na tuhý nosič nebo gel. Stacionární fáze může být naplněna do kolon, rovnoměrně rozprostřena do vrstvy nebo filmu atd. Mobilní fáze může být plynná, kapalná nebo kapalina v superkritickém stavu. Separace může být založena na adsorpci, rozdělování, výměně iontů atd., nebo může být založena na rozdílech ve fyzikálně-chemických vlastnostech molekul, jako je velikost, hmotnost, objem atd.

Tato kapitola obsahuje definice a výpočty společných parametrů a obecné požadavky pro způsobilost systému. Principy separace, přístroje a metody jsou pak uvedeny v dalších obecných statích věnovaných jednotlivým separačním metodám:

Papírová chromatografie (2.2.26)

Tenkovrstvá chromatografie (2.2.27)

Plynová chromatografie (2.2.28)

Kapalinová chromatografie (2.2.29)

Vylučovací chromatografie (2.2.30)

Superkritická fluidní chromatografie (2.2.45)

### Definice

*Následující definice jsou použity pro výpočet limitů v lékopisných člancích.*

*U některých přístrojů mohou být určité parametry, např. poměr signálu k šumu, vypočítány za použití softwaru daného výrobcem přístroje. Je odpovědností uživatele zajistit, aby metody použité v softwarovém vybavení byly slučitelné s lékopisnými požadavky. Pokud tomu tak není, musí být provedeny nezbytné korekce.*

### Chromatogram

Chromatogram představuje grafický nebo jiný záznam odezvy detektoru, koncentrace eluované látky nebo jiné veličiny použité jako měřítko této koncentrace v závislosti na čase, objemu nebo vzdálenosti. Idealizovaný chromatogram představuje řada gaussovských piků na základní linii.

### RETENČNÍ DATA

#### Retenční čas a retenční objem

Měření retence v eluční chromatografii může být vyjádřeno retenčním časem ( $t_R$ ), přímo definovaným polohou vrcholu píku na chromatogramu. Z retenčního času může být vypočítán retenční objem ( $V_R$ ) podle vztahu:

$$V_R = t_R v,$$

v němž značí:

$t_R$  - retenční čas nebo vzdálenost podél základní linie od bodu nástřiku ke kolmici spuštěné z vrcholu píku odpovídajícího dané složce,

$v$  - průtokovou rychlost mobilní fáze.

#### Hmotnostní distribuční poměr (známý jako kapacitní faktor $k'$ nebo retenční faktor)

Hmotnostní distribuční poměr ( $D_m$ ) je definován jako:

$$D_m = \frac{\text{množství rozpuštěné látky ve stacionární fázi}}{\text{množství rozpuštěné látky v mobilní fázi}} = k_c \frac{V_s}{V_M},$$

v němž značí:

$k_C$  - rovnovážný distribuční koeficient (známý jako distribuční konstanta),

$V_S$  - objem stacionární fáze,

$V_M$  - objem mobilní fáze.

Hmotnostní distribuční poměr složky může být určen z chromatogramu s použitím výrazu:

$$D_m = \frac{t_R - t_M}{t_M},$$

v němž značí:

$t_R$  - retenční čas nebo vzdálenost (nebo objem) podél základní linie od bodu nástřiku ke kolmici spuštěné z vrcholu píku odpovídajícího dané složce,

$t_M$  - mrtvý čas nebo vzdálenost (nebo objem) podél základní linie od bodu nástřiku ke kolmici spuštěné z vrcholu píku odpovídajícího nezadržované složce.

### Distribuční koeficient

Eluční charakteristika látky na určité koloně ve vylučovací chromatografii může být dána distribučním koeficientem ( $K_0$ ), který se vypočítá ze vzorce:

$$K_0 = \frac{t_R - t_0}{t_i - t_0},$$

v němž značí:

$t_R$  - retenční čas nebo vzdálenost (nebo objem) podél základní linie od bodu nástřiku ke kolmici spuštěné z vrcholu píku odpovídajícího dané složce,

$t_0$  - mrtvý čas nebo vzdálenost (nebo objem) podél základní linie od bodu nástřiku ke kolmici spuštěné z vrcholu píku odpovídajícího nezadržované složce.

$t_i$  - retenční čas nebo vzdálenost (nebo objem) podél základní linie od bodu nástřiku ke kolmici spuštěné z vrcholu píku odpovídajícího složce, která může volně pronikat do všech pórů stacionární fáze.

### Retenční faktor

Retenční faktor ( $R_F$ ) (známý též jako retardační faktor  $R_f$ ) používaný v planární chromatografii, je poměr vzdálenosti od startu ke středu skvrny a vzdálenosti, kterou od startu urazilo čelo rozpouštědla.

$$R_F = \frac{b}{a},$$

v němž značí:

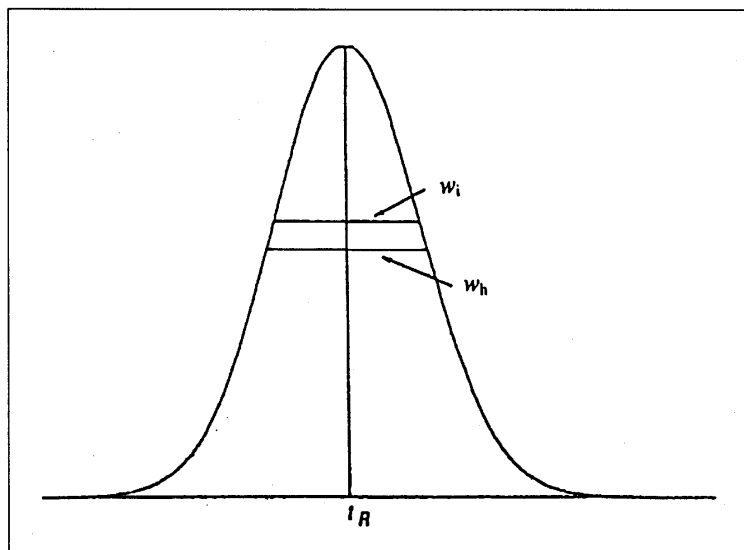
$b$  - migrační vzdálenost stanovované látky,

$a$  - migrační vzdálenost čela rozpouštědla.

### CHROMATOGRAFICKÁ DATA

Pík může být definován plochou píku ( $A$ ) nebo výškou píku ( $h$ ) a šířkou píku v poloviční výšce ( $w_h$ ) nebo výškou píku ( $h$ ) a šířkou píku mezi body inflexe ( $w_i$ ). Pro gaussovské píky (obr. 2.2.46-1) platí vztah:

$$w_h = 1,18w_i,$$



Obr. 2.2.46-1

### Faktor symetrie

Faktor symetrie píku ( $A_s$ ) (nebo faktor chvostování píku) (obr. 2.2.46-2) se vypočítá ze vzorce:

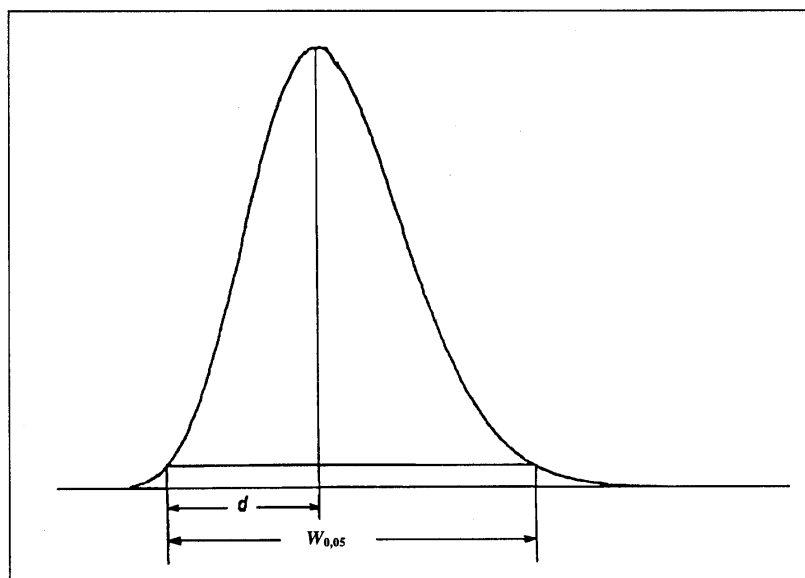
$$A_s = \frac{w_{0,05}}{2d},$$

v němž značí:

$w_{0,05}$  - šířku píku v jedné dvacetině jeho výšky,

$d$  - vzdálenost mezi kolmicí spuštěnou z vrcholu píku a vzestupnou částí píku v jedné dvacetině jeho výšky.

Hodnota faktoru symetrie 1,0 značí úplnou (ideální) symetrii píku.



Obr. 2.2.46-2



## Účinnost kolony a zdánlivý počet teoretických pater

Účinnost kolony (zdánlivá) může být vypočtena jako zdánlivý počet teoretických pater ( $N$ ) z dat získaných v závislosti na technice za podmínek izotermických, izokratických nebo izopyknických. Použije se následující vzorec, v němž hodnoty  $t_r$  a  $w_h$  musí být vyjádřeny ve stejných jednotkách (času, objemu nebo vzdálenosti):

$$N = 5,54 \left( \frac{t_R}{w_h} \right)^2,$$

v němž značí:

$t_R$  - retenční čas nebo vzdálenost (nebo objem) podél základní linie od bodu nástřiku ke kolmici spuštěné z vrcholu píku odpovídajícího dané složce,

$w_h$  - šířku píku v polovině jeho výšky.

Zdánlivý počet teoretických pater se mění se stanovovanou složkou, kolonou a retenčním časem.

## SEPARAČNÍ DATA

### Rozlišení

Rozlišení ( $R_s$ ) mezi píky dvou složek, které mají podobnou výšku, může být vypočteno ze vzorce:

$$R_s = \frac{1,18(t_{R2} - t_{R1})}{w_{h1} + w_{h2}}, \quad \text{kde } t_{R2} > t_{R1},$$

v němž značí:

$t_{R1}$  a  $t_{R2}$  - retenční časy nebo vzdálenosti podél základní linie od bodu nástřiku ke kolmicím spuštěným z vrcholů dvou sousedních píků,

$w_{h1}$  a  $w_{h2}$  - šířky píků v poloviční výšce.

Rozlišení větší než 1,5 odpovídá rozdělení píků na základní linii.

Pro píky, které se vzájemně značně liší svými výškami, nemusí být výše uvedený vzorec vhodný.

V kvantitativní planární chromatografii jsou místo retenčních časů používány migrační vzdálenosti  $a$  a  $b$  a rozlišení může být vypočteno ze vzorce:

$$R_s = \frac{1,18 a(R_{F2} - R_{F1})}{w_{h1} + w_{h2}},$$

v němž značí:

$R_{F1}$  a  $R_{F2}$  - poměry vzdáleností od startu ke středům skvrn a vzdálenosti, kterou od startu urazilo čelo rozpouštědla,

$w_{h1}$  a  $w_{h2}$  - šířky píků v polovině jejich výšky,

$a$  - migrační vzdálenost čela rozpouštědla.

### Poměr výšky píku k sedlu

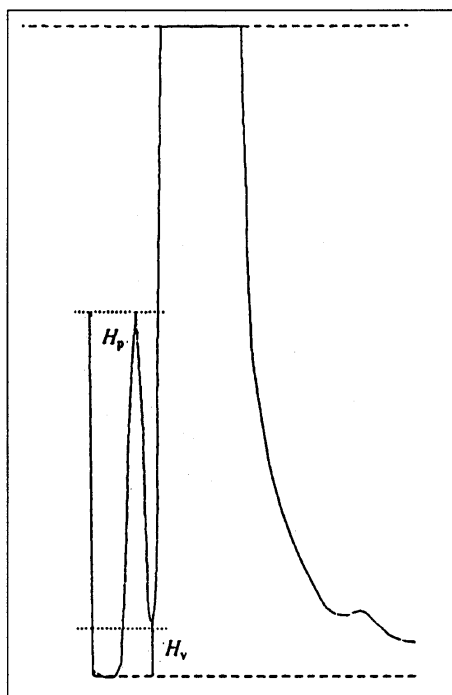
Jestliže není zcela oddělena nečistota od analyzované látky, lze použít poměr výšky píku k sedlu ( $p/v$ ) jako kritérium pro způsobilost systému k dělení příbuzných látek (obr. 2.2.46-3).

$$p/v = \frac{H_p}{H_v},$$

v němž značí:

$H_p$  - výšku píku nečistoty nad extrapolovanou základní linií,

$H_v$  - výšku nejnižšího bodu křivky oddělující píky nečistoty a stanovované látky (sedlo) nad extrapolovanou základní linií.



Obr. 2.2.46-3

### Relativní retence

Relativní retence ( $r$ ) se vypočítá ze vzorce:

$$r = \frac{t_{R2} - t_M}{t_{R1} - t_M},$$

v němž značí:

$t_{R2}$  - retenční čas sledovaného píku,

$t_{R1}$  - retenční čas referenčního píku (obvykle pík odpovídající zkoušené látce),

$t_M$  - mrtvý čas nebo vzdálenost podél základní linie od bodu nástřiku ke kolmici spuštěné z vrcholu píku odpovídajícího nezadržované složce.

V planární chromatografii se používají retenční faktory  $R_{F2}$  a  $R_{F1}$  místo  $t_{R2}$  a  $t_{R1}$ .

### PŘESNOST KVANTITATIVNÍ ANALÝZY

#### Poměr signálu k šumu

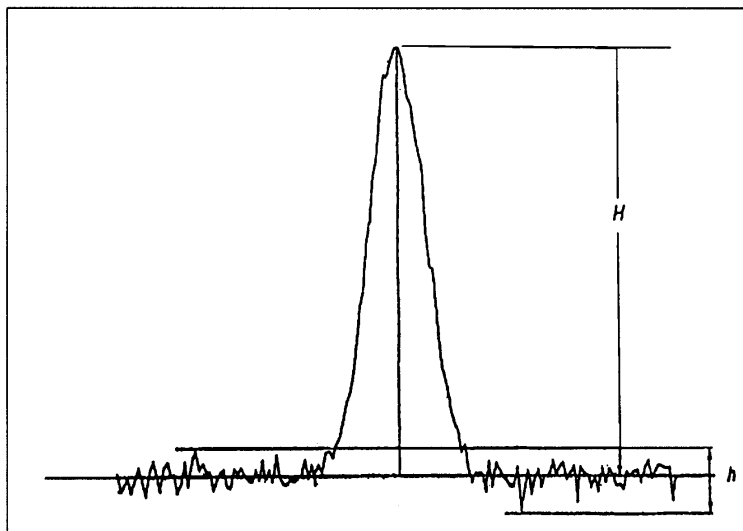
Poměr signálu k šumu ( $S/N$ ), který ovlivňuje přesnost stanovení obsahu složek, se vypočítá ze vzorce:

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

v němž značí:

$H$  - výšku píku (obr. 2.2.46-4) odpovídajícího dané látce na chromatogramu předepsaného porovnávacího roztoku měřené od vrcholu píku k extrapolované základní linii signálu, který se sleduje na vzdálenosti rovné dvacetinásobku šířky píku v polovině jeho výšky,

$h$  - rozpětí šumu pozadí na chromatogramu získaného při slepé zkoušce a zaznamenávaného na vzdálenosti rovné dvacetinásobku šířky píku v polovině jeho výšky na chromatogramu předepsaného porovnávacího roztoku, a to pokud možno rovnoměrně na obě strany od místa, kde by se měl nacházet sledovaný pik.



Obr. 2.2.46-4

### Opakovatelnost

Opakovatelnost odezvy se vyjadřuje jako odhad relativní směrodatné odchylky ( $RSD_{\%}$ ) v procentech pro řadu následných měření porovnávacího roztoku a vypočítá se z výrazu:

$$RSD_{\%} = \frac{100}{\bar{y}} \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n-1}},$$

v němž značí:

$y_i$  - jednotlivé hodnoty vyjádřené jako plocha píku, výška píku nebo poměr ploch u metody vnitřního standardu,

$\bar{y}$  - průměr jednotlivých hodnot,

$n$  - počet jednotlivých hodnot.

Maximální dovolená relativní standardní odchylka ( $RSD_{\max}$ ) se vypočítá pro řadu nástřiků porovnávacího roztoku pro definované limity podle následujícího vzorce:

$$RSD_{\max} = \frac{KB\sqrt{n}}{t_{90\%,n-1}},$$

v němž značí:

$K$  - konstantu (0,349) získanou ze vztahu:  $K = \frac{0,6}{\sqrt{2}} \cdot \frac{t_{90\%,5}}{\sqrt{6}}$ , v němž  $\frac{0,6}{\sqrt{2}}$  představuje požadovanou  $RSD$  pro

6 nástřiků a pro  $B = 1,0$ ,

$B$  - horní limit daný v definici jednotlivých lékopisných článků minus 100 % za předpokladu, že horní limit je určen podle reprodukovatelnosti metody,

$n$  - počet opakovaných nástřiků porovnávacího roztoku ( $3 \leq n \leq 6$ ),

$t_{90\%,n-1}$  - Studentův parametr  $t$  při 90% pravděpodobnosti (oboustranný) pro  $n - 1$  stupňů volnosti.

## Způsobilost systému

Test způsobilosti systému představuje nedílnou součást metody a slouží k zajištění přiměřené účinnosti chromatografického systému. Pro hodnocení účinnosti kolony se používají následující parametry: zdánlivá účinnost, kapacitní faktor, rozlišení, relativní retence a faktor symetrie. Faktory, které mohou ovlivnit chromatografické chování, zahrnují složení mobilní fáze, její iontovou sílu, teplotu a zdánlivé pH, průtokovou rychlost, délku kolony, teplotu a tlak, charakteristiku stacionární fáze včetně porozity, velikosti a typu částic, specifického povrchu a u nosičů používaných v chromatografii s obrácenými fázemi rozsah chemické modifikace (odstranění povrchových silanolových skupin, obsah vázaného uhlíku atd.).

Jednotlivé části použitého zařízení musí být kvalifikovány a musí být schopny dosáhnout přesnosti požadované pro provedení zkoušky nebo stanovení obsahu.

Pokud není v lékopisném článku uvedeno jinak, musí být splněny následující požadavky:

- faktor symetrie hlavního píku má být mezi 0,8 a 1,5, pokud není v lékopisném článku stanoveno jinak. Tento požadavek je obecně použitelný pro zkoušky na čistotu nebo stanovení obsahu popsané v lékopisných člancích,
- maximální dovolená relativní směrodatná odchylka pro opakované nástřiky předepsaného porovnávacího roztoku nepřevyšuje hodnoty uvedené v tabulce 2.2.46-1. Tento požadavek je použitelný pouze pro stanovení obsahu,
- mez detekce píku (odpovídající poměru signálu k šumu = 3) je pod limitem zanedbatelnosti piků (práh zaznamenávání piků) u zkoušky na příbuzné látky,
- mez stanovitelnosti píku (odpovídající poměru signálu k šumu = 10) je nejvýše rovna limitu zanedbatelnosti piků u zkoušky na příbuzné látky.

**Tab. 2.2.46-1** Požadavky na opakovatelnost

	Počet jednotlivých nástřiků			
	3	4	5	6
B (%)	Maximální dovolená relativní směrodatná odchylka			
1,0	0,21	0,30	0,37	0,42
1,5	0,31	0,44	0,55	0,64
2,0	0,41	0,59	0,73	0,85
2,5	0,52	0,74	0,92	1,06
3,0	0,62	0,89	1,10	1,27

## ÚPRAVA CHROMATOGRAFICKÝCH PODMÍNEK

Pro informaci je níže uveden rozsah, v němž mohou být různé parametry chromatografické zkoušky upraveny tak, aby byla splněna kritéria způsobilosti systému, aniž by přitom došlo k podstatnému pozměnění metody. Popsané chromatografické podmínky byly validovány během vypracovávání lékopisného článku. V metodách jsou začleněny testy způsobilosti systému, aby se zajistila separace požadovaná pro uspokojivé provedení zkoušky na čistotu nebo stanovení obsahu. Protože použité stacionární fáze jsou popsány obecně a komerčně je k dispozici vždy celá řada takovýchto fází, lišících se navzájem chromatografickým chováním, může být určité upravení chromatografických podmínek nezbytné pro splnění předepsaných požadavků na způsobilost systému. Zejména u metod kapalinové chromatografie s obrácenými fázemi se však upravením různých parametrů nedosáhne vždy uspokojivého dělení. V takovém případě pak může být nutné zaměnit kolonu za jinou kolonu stejného typu (např. silikagel s oktadecylsilanizovanými skupinami), ale od jiného výrobce, která bude vykazovat žádoucí chromatografické chování.

U kritických parametrů je jejich úprava jasně stanovena v lékopisném článku, aby se zajistila způsobilost systému.

Je vhodné vyhnout se několikanásobnému upravování, které může mít kumulativní vliv na účinnost chromatografického systému.

## Tenkovrstvá chromatografie a papírová chromatografie

*Složení mobilní fáze.* Množství minoritní složky rozpouštědla může být upraveno v rozmezí  $\pm 30$  relativních procent nebo  $\pm 2$  absolutní procenta, podle toho, která hodnota je větší. Žádná jiná složka se nemění o více než 10 absolutních procent.

*pH vodné složky mobilní fáze.*  $\pm 0,2$  hodnoty pH, pokud není uvedeno jinak v lékopisném článku, nebo  $\pm 1,0$  pH, když je zkoušená látka neutrální.

*Koncentrace solí v tlumivém roztoku tvořícím součást mobilní fáze* je možno upravovat v rozmezí  $\pm 10$  %.

*Nanášený objem* lze snížit na 20 % předepsaného objemu, jestliže se používají desky s jemnými částicemi (2  $\mu\text{m}$  až 10  $\mu\text{m}$ ).

*Migrační vzdálenost čela rozpouštědla* nemá být menší než 50 mm.

## Kapalinová chromatografie

*Složení mobilní fáze.* Množství minoritní složky rozpouštědla může být upraveno v rozmezí  $\pm 30$  relativních procent nebo  $\pm 2$  absolutní procenta, podle toho, která hodnota je větší. Žádnou další složku nelze měnit o více než 10 absolutních procent.

*pH vodné složky mobilní fáze.*  $\pm 0,2$  hodnoty pH, pokud není uvedeno jinak v lékopisném článku, nebo  $\pm 1,0$  hodnoty pH, když je zkoušená látka neutrální.

*Koncentrace solí v tlumivém roztoku tvořícím součást mobilní fáze* je možno upravovat v rozmezí  $\pm 10$  %.

*Vlnová délka detektoru.* Není dovoleno žádné upravování.

*Stacionární fáze:*

- délka kolony:  $\pm 70$  %,
- vnitřní průměr kolony:  $\pm 25$  %,
- velikost částic: zmenšení nejvýše o 50 %, zvětšení není dovoleno.

*Průtoková rychlost.*  $\pm 50$  %.

*Teplota.*  $\pm 10$  %, nejvýše však 60 °C.

*Nastřikovaný objem* může být zmenšen za předpokladu, že detekce píků a opakovatelnost stanovovaného píku (stanovovaných píků) je vyhovující.

*Gradientová eluce.* Konfigurace použitého zařízení může významně změnit rozlišení, retenční čas a relativní retence popsané v konkrétní metodě. To může být způsobeno zvětšeným mrtvým objemem, což je objem mezi vrškem kolony a bodem, v němž dochází ke smíchání dvou složek mobilní fáze.

## Plynová chromatografie

*Stacionární fáze:*

- délka kolony:  $\pm 70$  %,
- vnitřní průměr kolony:  $\pm 50$  %,
- velikost částic: zmenšení nejvýše o 50 %, zvětšení není dovoleno,
- tloušťka filmu:  $-50$  % až  $+100$  %.

*Průtoková rychlost.*  $\pm 50$  %.

*Teplota.*  $\pm 10$  %.

*Nastřikovaný objem* může být zmenšen za předpokladu, že detekce a opakovatelnost je vyhovující.

## Superkritická fluidní chromatografie

*Složení mobilní fáze.* Pro náplňové kolony může být množství minoritní složky rozpouštědla upraveno v rozmezí  $\pm 30$  relativních procent nebo  $\pm 2$  absolutní procenta, podle toho, která hodnota je větší. Při použití kapilárních kolon není žádná úprava dovolena.

*Vlnová délka detektoru.* Není dovoleno žádné upravování.

*Stacionární fáze:*

- *délka kolony:*  $\pm 70\%$ ,

- *vnitřní průměr kolony:*  $\pm 25\%$  (náplňové kolony),  $\pm 50\%$  (kapilární kolony),

- *velikost částic:* zmenšení nejvýše o  $50\%$ , zvětšení není dovoleno (plněné kolony).

*Průtoková rychlost.*  $\pm 50\%$ .

*Teplota.*  $\pm 10\%$ , nejvýše však  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

*Nastříkovaný objem* může být zmenšen za předpokladu, že detekce piků a opakovatelnost plochy piků je vyhovující.

## Kvantitativní analýza

**Metoda vnějšího standardu.** Koncentrace stanovované složky (stanovovaných složek) se určí porovnáním odezvy piků (píků) složky (složek) naměřené pro zkoušený roztok a odpovídající odezvy naměřené pro porovnávací roztok.

**Metoda vnitřního standardu.** Ke zkoušenému a porovnávacímu roztoku se přidají stejná množství látky (kterou zkoušený roztok neobsahuje), kterou lze rozlišit od zkoušené látky a která s ní nereaguje (vnitřní standard). Koncentrace zkoušené látky se stanoví porovnáním poměru ploch piků nebo výšek piků stanovované látky a vnitřního standardu pro zkoušený roztok a odpovídajícího poměru pro porovnávací roztok.

**Metoda normalizace.** Obsah jedné nebo více složek zkoušené látky v procentech se vypočítá z plochy nebo ploch jako procento celkové plochy všech piků s výjimkou piků rozpouštědel nebo přidaných reakčních činidel a piků, které jsou v limitu zanedbatelnosti piků.

**Kalibrační postup.** Stanoví se vztah mezi měřeným nebo vyhodnocovaným signálem ( $y$ ) a množstvím (koncentrace, hmotnost, atd.) stanovované látky ( $x$ ) a vypočítá se kalibrační funkce. Výsledky analýzy se vypočtou ze změřeného nebo vyhodnoceného signálu stanovované látky pomocí inverzní funkce.

Pro zkoušky na čistotu a stanovení obsahu složek může být v lékopisném článku předepsána metoda vnějšího standardu, vnitřního standardu nebo kalibrační postup.

Metoda normalizace není v tomto případě běžně používána. Ve zkouškách na příbuzné látky se obecně používá buď metoda vnějšího standardu s jedním porovnávacím roztokem, nebo metoda normalizace. Jestliže je u metody normalizace nebo u metody vnějšího standardu používán pro porovnání zředěný roztok zkoušené látky, jsou odezvy příbuzných látek podobné odezvě účinné látky (*odezvoový faktor* 0,8 až 1,2), jinak jsou uvedeny v textu *korekční faktory* (převrácená hodnota odezvového faktoru).

Odezvoový faktor je poměrná hodnota, která je rovna odezvě jedné látky vztažené k odezvě stejného množství jiné látky za podmínek popsanych v textu.

Jestliže je ve zkoušce na příbuzné látky předepsáno sečítání nečistot nebo stanovení obsahu některé nečistoty, je důležité zvolit vhodné nastavení prahové hodnoty a vhodné podmínky pro integraci ploch piků. U takovýchto zkoušek je *limit pro zanedbatelnost piků* (např. hodnota plochy, kterou nejvýše mohou mít píky, k nimž se při hodnocení nepřihlíží) obecně  $0,05\%$ . Nastavení prahové hodnoty systému pro sběr dat odpovídá nejméně polovině tohoto limitu. Plochy piků nečistot, které nejsou úplně odděleny od hlavního piků, jsou přednostně integrovány za použití extrapolace sedlo – sedlo (tangenciální oddělení minoritního piků). Píky rozpouštědla nebo rozpouštědel použitých pro rozpuštění vzorku se rovněž zanedbávají.

### 2.2.47 Kapilární elektroforéza



2001

#### Obecné principy

Kapilární elektroforéza je fyzikální analytická metoda založená na migraci elektricky nabitých stanovovaných látek rozpuštěných v roztoku elektrolytu kapilárou vlivem stejnosměrného elektrického pole.

Migrační rychlost stanovované látky v elektrickém poli o intenzitě  $E$  je určena elektroforetickou pohyblivostí stanovované látky a elektroosmotickou pohyblivostí tlumivého roztoku v kapiláře. Elektroforetická pohyblivost rozpuštěné látky ( $\mu_{ep}$ ) závisí na jejích vlastnostech (elektrický náboj, velikost a tvar molekuly) a na vlastnostech tlumivého roztoku, v němž migrace probíhá (typ a iontová síla roztoku elektrolytu, pH, viskozita, přísady). Elektroforetická rychlost ( $v_{ep}$ ) rozpuštěné látky je za předpokladu kulového tvaru nabitých molekul dána rovnicí:

$$v_{\text{ep}} = \mu_{\text{ep}} E = \left( \frac{q}{6\pi\eta r} \right) \left( \frac{V}{L} \right),$$

v níž značí:

- $q$  - efektivní náboj rozpuštěné látky,
- $\eta$  - viskozitu roztoku elektrolytu,
- $r$  - Stokesův poloměr rozpuštěné látky,
- $V$  - vložené napětí,
- $L$  - celkovou délku kapiláry.

Vlivem elektrického pole vzniká uvnitř kapiláry naplněné tlumivým roztokem proud rozpouštědla nazývaný elektroosmotický tok. Rychlost elektroosmotického toku je dána elektroosmotickou pohyblivostí ( $\mu_{\text{eo}}$ ), která závisí na hustotě náboje na vnitřní stěně kapiláry a vlastnostech tlumivého roztoku. Elektroosmotická rychlost ( $v_{\text{eo}}$ ) je dána rovnicí:

$$v_{\text{eo}} = \mu_{\text{eo}} E = \left( \frac{\varepsilon \zeta}{\eta} \right) \left( \frac{V}{L} \right),$$

v níž značí:

- $\varepsilon$  - permitivitu tlumivého roztoku,
- $\zeta$  - elektrokinetický (zeta) potenciál povrchu kapiláry.

Elektroforetická a elektroosmotická pohyblivost stanovované látky mohou mít stejný nebo opačný směr v závislosti na náboji (kladném nebo záporném) rozpuštěné látky, takže rychlost rozpuštěné látky ( $v$ ) je dána výrazem:

$$v = v_{\text{ep}} \pm v_{\text{eo}}.$$

Součet nebo rozdíl dvou členů se použije podle toho, zda pohyblivosti mají stejný nebo opačný směr. Při velké elektroosmotické rychlosti vzhledem k elektroforetické rychlosti rozpuštěných látek mohou být záporně i kladně nabitě stanovované látky separovány současně.

Čas ( $t$ ), který rozpuštěná látka potřebuje k migraci po vzdálenosti ( $l$ ), tj. od místa nástřiku do detekční cely (efektivní délka kapiláry), je dán výrazem:

$$t = \frac{l}{v_{\text{ep}} \pm v_{\text{eo}}} = \frac{l \cdot L}{(\mu_{\text{ep}} \pm \mu_{\text{eo}}) \cdot V}.$$

Většina křemenných kapilár používaných v elektroforeze má na svém vnitřním povrchu záporné náboje, které vyvolávají elektroosmotický tok směrem ke katodě. Pro získání dobré reprodukovatelnosti migrační rychlosti rozpuštěné látky musí zůstat elektroosmotický tok konstantní od analýzy k analýze. Pro některé aplikace je nutné snížit nebo potlačit elektroosmotický tok modifikací vnitřní stěny kapiláry nebo změnou pH tlumivého roztoku.

Po nástřiku vzorku do kapiláry migruje každý analyzovaný druh iontů vzorku nosným elektrolytem jako nezávislá zóna podle své elektroforetické pohyblivosti. Rozptýl zóny, což je rozšíření pásu každé rozpuštěné látky, je výsledkem několika různých jevů. V ideálním případě je jediným příspěvkem k rozšíření zóny rozpuštěné látky molekulární difuze rozpuštěné látky podél kapiláry (podélná difuze). V tomto ideálním případě je účinnost separace, vyjádřená jako počet teoretických pater ( $N$ ), dána výrazem:

$$N = \frac{(\mu_{\text{ep}} \pm \mu_{\text{eo}}) \cdot V \cdot l}{2 \cdot D \cdot L},$$

v němž značí:

- $D$  - difuzní koeficient rozpuštěné látky v tlumivém roztoku.

V praxi mohou k rozšíření zóny významně přispívat i jiné jevy, jako je uvolňované teplo, adsorpce vzorku na stěnu kapiláry, rozdíly elektrické vodivosti vzorku a tlumivého roztoku (elektrodisperze), délka dávkované zóny, velikost (délka) detekční cely a nestejná úroveň hladin elektrolytu v elektrodových nádobkách.

Separace dvou zón (vyjádřené jako rozlišení  $R_s$ ) může být dosaženo modifikací elektroforetické pohyblivosti stanovované látky, elektroosmotické pohyblivosti vyvolané v kapiláře a zvýšením účinnosti pro zónu každé stanovované látky podle rovnice:

$$R_s = \frac{\sqrt{N(\mu_{\text{epb}} - \mu_{\text{epa}})}}{4(\bar{\mu}_{\text{ep}} \pm \mu_{\text{eo}})},$$

v níž značí:

$\mu_{\text{epa}}$  a  $\mu_{\text{epb}}$  - elektroforetickou pohyblivost dvou separovaných stanovovaných látek,

$\bar{\mu}_{\text{ep}}$  - střední elektroforetickou pohyblivost dvou stanovovaných látek  $\left[ \bar{\mu}_{\text{ep}} = \frac{1}{2} (\mu_{\text{epb}} + \mu_{\text{epa}}) \right]$ .

## Zařízení

Zařízení pro kapilární elektroforézu se skládá:

- z řiditelného zdroje stejnosměrného vysokého napětí,
- ze dvou nádobek na tlumivý roztok udržovaných na stejné úrovni, obsahujících předepsaný anodický a katodický roztok,
- ze dvou elektrod (anoda a katoda) ponořených do nádobek s tlumivým roztokem a připojených ke zdroji vysokého napětí,
- ze separační kapiláry (obvykle křemenné), která, je-li používána s určitými druhy detektorů, má v místě detekce opticky průhledné okénko; konce kapiláry jsou umístěny v nádobkách s tlumivým roztokem; kapilára je naplněna roztokem předepsaným v lékopisném článku,
- ze vhodného dávkovacího systému,
- z detektoru schopného sledovat množství zkoumané látky procházející úsekem kapiláry v daném čase; je obvykle založen na absorpční spektrofotometrii (ultrafialové a viditelné) nebo fluorimetrii, ale pro určité aplikace může být vhodná vodivostní, amperometrická nebo hmotnostně spektrometrická detekce; alternativní metodou používanou k detekci látek neabsorbujících UV záření a nefluoreskujících je nepřímá detekce,
- z termostátového systému schopného udržovat konstantní teplotu uvnitř kapiláry (doporučuje se pro získání dobré reprodukovatelnosti separace),
- zapisovače a vhodného integrátoru nebo počítače.

Pro přesnou kvantitativní analýzu je kritické určení způsobu dávkování a jeho automatizace. Dávkování může být hydrodynamické (hydrostatické, tlakové nebo vakuové) a elektrokinetické. Množství každé složky vzorku dávkovaného elektrokineticky závisí na její elektroforetické pohyblivosti, takže používání tohoto způsobu nástřiku vede k různému zastoupení nabitých složek v kapiláře.

Použijí se kapilára, tlumivé roztoky, metoda předúpravy kapiláry, roztok vzorku a migrační podmínky předepsané v článku uvažované látky. Použitý roztok elektrolytu se zfiltruje, aby se odstranily částice, a odplyní, aby se zabránilo tvorbě bublin, které způsobují rušení při detekci nebo přerušování elektrického proudu v kapiláře během separace. Pro každou analytickou metodu musí být vyvinut důkladný promývací postup, aby se dosáhlo reprodukovatelných migračních časů rozpuštěných látek.

## Kapilární elektroforéza ve volném roztoku

### Princip

Při kapilární elektroforéze ve volném roztoku jsou stanovované látky separovány v kapiláře obsahující pouze tlumivý roztok bez přísad zabraňujících proudění. Při této metodě dochází k separaci na základě různé rychlosti migrace jednotlivých složek migrujících v oddělených zónách. Rychlost každé zóny závisí na elektroforetické pohyblivosti rozpuštěné látky a elektroosmotickém toku v kapiláře (viz Obecné principy). Pro zvýšení účinnosti separace látek, které jsou adsorbovány na křemenný povrch, mohou být použity kapiláry s vnitřním povlakem.

Tato varianta kapilární elektroforézy může být použita pro analýzu jak malých ( $M_r < 2000$ ), tak i velkých molekul ( $2000 < M_r < 100\,000$ ). Díky vysoké účinnosti, které je v kapilární elektroforéze ve volném roztoku dosahováno, může být prováděna separace molekul, jež mají jen nepatrný rozdíl v poměru náboje ke hmotnosti. Tento způsob separace umožňuje také separaci chirálních látek přidáním chirálního selektoru do separačního tlumivého roztoku.



## Optimalizace

Optimalizace separace je komplexní proces, v němž mohou hrát významnou roli různé separační parametry. Hlavní faktory, které je třeba brát v úvahu při vývoji separace, jsou instrumentální parametry a parametry roztoku elektrolytu.

### - Instrumentální parametry

**Napětí.** Čas separace je nepřímo úměrný vloženému napětí. Zvýšení napětí však může způsobit nadměrnou tvorbu tepla, které zvyšuje teplotu, výsledkem je gradient viskozity tlumivého roztoku v kapiláře. Tento jev způsobuje rozšíření zóny a snižuje rozlišení.

**Teplota.** Teplota ovlivňuje především viskozitu a elektrickou vodivost tlumivého roztoku, a tím i migrační rychlost. V některých případech může zvýšení teploty způsobit konformační změny bílkovin, což pozmění jejich migrační čas a účinnost separace.

**Kapilára.** Rozměry kapiláry (délka a vnitřní průměr) ovlivňují čas analýzy, účinnost separace a kapacitu. Zvýšení celkové délky snižuje intenzitu elektrického pole (při konstantním napětí), což prodlouží migrační čas. Pro daný tlumivý roztok a intenzitu elektrického pole závisí uvolněné teplo a tím i rozšíření zóny vzorku na vnitřním průměru kapiláry. Ten také ovlivňuje detekční limit, který dále závisí na nastříknutém objemu vzorku a použitém detekčním systému.

Jelikož adsorpce složek vzorku na stěnu kapiláry omezuje účinnost, musí být při vývoji separační metody brány v úvahu postupy, které těmto interakcím zabráňují. V případě bílkovin bylo navrženo několik metod, jak zabránit adsorpci na stěnu kapiláry. Některé z těchto metod vyžadují pouze modifikaci složení tlumivého roztoku (použití extrémní hodnoty pH, adsorpce kladně nabitých přísad tlumivého roztoku). V jiných případech je vnitřní stěna kapiláry pokryta polymerem kovalentně vázaným na oxid křemičitý, který zabráňuje interakcím mezi bílkovinami a záporně nabitým křemenným povrchem. Pro tyto účely jsou dostupné komerční kapiláry pokryté neutrálními hydrofilními, kationtovými a aniontovými polymery.

### - Parametry roztoku elektrolytu

**Složení tlumivého roztoku a koncentrace.** Vhodné tlumivé roztoky pro kapilární elektroforézu mají přiměřenou tlumivou kapacitu ve vybrané oblasti pH a nízkou elektrickou vodivost, aby se minimalizoval procházející elektrický proud.

Pro minimalizaci deformace zóny je důležité přizpůsobit pohyblivost koiontu tlumivého roztoku pohyblivostí rozpuštěné látky, pokud je to možné. Pro zaostření zóny vzorku v kapiláře, které zvyšuje separační účinnost a zlepšuje detekci, je také důležitý typ použitého rozpouštědla vzorku.

Zvýšení koncentrace tlumivého roztoku (pro dané pH) snižuje elektroosmotický tok a rychlost rozpuštěné látky.

**pH tlumivého roztoku.** pH tlumivého roztoku může ovlivnit separaci změnou náboje stanovované látky nebo přísady a změnou elektroosmotického toku. Při separaci bílkovin a peptidů se při změně pH z hodnoty nad izoelektrickým bodem (pI) na hodnotu pod izoelektrickým bodem změní výsledný náboj rozpuštěné látky ze záporného na kladný. Zvýšení pH tlumivého roztoku obecně zvyšuje elektroosmotický tok.

**Organická rozpouštědla.** Organické modifikátory (methanol, acetonitril atd.) mohou být přidány do vodného tlumivého roztoku pro zvýšení rozpustnosti zkoušené látky nebo jiných přísad a/nebo pro ovlivnění stupně ionizace složek vzorku. Přídavek organických modifikátorů do tlumivého roztoku obecně způsobuje snížení elektroosmotického toku.

**Přísady pro chirální separace.** Pro separaci optických izomerů se do separačního tlumivého roztoku přidává chirální selektor. Nejběžněji používané chirální selektory jsou cyklodextriny, ale mohou se také používat cyklické polyethery, polysacharidy a bílkoviny. Jelikož chirální rozlišení je řízeno rozdílnou interakcí chirálního selektoru s každým z enantiomerů, závisí dosažené rozlišení chirálních látek do značné míry na typu použitého chirálního selektoru. V tomto ohledu může být pro vývoj dané separace užitečné zkoušet cyklodextriny s různou velikostí dutiny ( $\alpha$ -,  $\beta$ -, nebo  $\gamma$ -cyklodextrin) nebo modifikované cyklodextriny s neutrálními (methyl-, ethyl-, hydroxyalkyl- atd.) nebo ionizovatelnými (aminomethyl-, karboxymethyl-, sulfobutylether- atd.) skupinami. Při použití modifikovaných cyklodextrinů musí být brány v úvahu odchylky mezi jednotlivými šaržemi ve stupni substituce cyklodextrinů, které mohou ovlivňovat selektivitu. Další faktory, které řídí rozlišení při chirálních separacích, jsou koncentrace chirálního selektoru, složení a pH tlumivého roztoku a teplota. Dosažené rozlišení může být také pozměněno použitím organických přísad, jako je methanol nebo močovina.

## Kapilární gelová elektroforéza

### Princip

V kapilární gelové elektroforéze se separace provádí v kapiláře naplněné gelem, který působí jako molekulové síto. V tomto uspořádání se při daném poměru náboje k hmotnosti pohybují menší složky kapilárou rychleji než větší. Kapilární gelová elektroforéza se může použít pro separaci biologických makromolekul (bílkovin a fragmentů DNK) podle jejich molekulové hmotnosti.

### Vlastnosti gelu

V kapilární elektroforéze se používají dva typy gelů: chemické a fyzikální. Chemické gely, jako je zesítený polyakrylamid, jsou připravovány v kapiláře polymerací monomerů. Jsou obvykle navázány na křemennou stěnu a nemohou být odstraněny, aniž by nebyla zničena kapilára. Pokud se gely používají k separaci bílkovin, obsahuje separační tlumivý roztok obvykle dodecylsírán sodný a vzorky jsou před nástřikem denaturovány zahříváním ve směsi dodecylsíranu sodného

a 2-merkptoethanolu nebo dithiothreitolu. Separace v zesítených gelech může být optimalizována modifikací separačního tlumivého roztoku (jak je naznačeno v oddíle o kapilární elektroforéze ve volném roztoku) a regulací porozity gelu při jeho přípravě. Porozita zesítených polyakrylamidových gelů může být ovlivněna změnou koncentrace akrylamidu a/nebo zastoupení síťovadla. Je pravidlem, že snížení porozity gelu vede ke snížení pohyblivosti rozpuštěných látek. Vzhledem k tuhosti těchto gelů se může používat pouze elektrokinetický nástřik.

Fyzikální gely jsou hydrofilní polymery, jako lineární polyakrylamid, deriváty celulosy, dextran atd., které mohou být rozpuštěny ve vodných separačních tlumivých roztocích za vzniku separačního média, které rovněž působí jako molekulové síto. Tato separační média se připravují snáze než zesítené polymery. Mohou být připraveny v zásobní nádobce a tlakem naplněny do kapiláry s pokrytou vnitřní stěnou (bez elektroosmotického toku). Výměna gelu před každým nástřikem obecně zlepšuje reprodukovatelnost separace. Porozita gelů se může zvýšit použitím polymerů o vyšší molekulové hmotnosti (při dané koncentraci polymeru) nebo snížením koncentrace polymeru (při dané molekulové hmotnosti polymeru). Snížení porozity gelu vede ve stejném tlumivém roztoku ke snížení pohyblivosti rozpuštěné látky. Rozpuštěním těchto polymerů v tlumivém roztoku vznikají roztoky s nízkou viskozitou, proto se může použít jak hydrodynamický, tak elektrokinetický nástřik.

## Kapilární izoelektrická fokusace

### Princip

Při izoelektrické fokusaci se vlivem elektrického pole pohybují amfoterní molekuly, pokud jsou nabitě, tj. pokud se nacházejí mimo oblast svého izoelektrického bodu, v gradientu pH tvořeném amfolyty s širokým rozsahem pI (polyaminokarboxylové kyseliny) rozpuštěnými v separačním tlumivém roztoku.

Třemi základními kroky izoelektrické fokusace jsou plnění, fokusace a mobilizace.

*Plnění.* Mohou být použity dva postupy:

- jednostupňové plnění; vzorek se smíchá s amfolyty a zavede se do kapiláry tlakem nebo vakuem.
- postupné plnění; do kapiláry se postupně zavede vedoucí roztok, amfolyty, vzorek smíchaný s amfolyty, opět samotné amfolyty a nakonec koncový roztok; objem vzorku musí být dostatečně malý, aby neovlivňoval gradient pH.

*Fokusace.* Vlivem vloženého napětí migrují amfolyty podle svého výsledného náboje ke katodě, nebo k anodě, takže vytvářejí gradient pH od anody (nižší pH) ke katodě (vyšší pH). Během tohoto kroku se separované složky pohybují, dokud nedosáhnou pH odpovídajícího jejich izoelektrickému bodu (pI) a proud pak poklesne na velmi malé hodnoty.

*Mobilizace.* Zóny separovaných složek jsou nuceny projít detektorem. Je možno použít tři postupy:

- v prvním postupu je mobilizace dosaženo během fokusace vlivem elektroosmotického toku; elektroosmotický tok musí být dostatečně malý, aby bylo dosaženo fokusace (dříve, než zóny projdou detektorem);
- v druhém postupu je mobilizace dosaženo působením pozitivního tlaku po fokusaci;
- ve třetím postupu je mobilizace dosaženo po fokusačním kroku přidáním solí do katodové nebo anodové nádoby (v závislosti na vybraném směru mobilizace), aby se změnilo pH v kapiláře, po vloženém napětí. Protože se změní

pH, jsou bílkoviny a amfolyty mobilizovány ve směru elektrodové nádoby, která obsahuje přidané soli a procházejí detektorem.

Dosažená separace vyjádřená jako  $\Delta pI$ , závisí na gradientu pH  $\left(\frac{dpH}{dx}\right)$ , počtu amfolytů s rozdílnou hodnotou  $pI$ , difuzním koeficientu stanovované látky ( $D$ ), intenzitě elektrického pole ( $E$ ) a změně elektroforetické pohyblivosti stanovované látky v závislosti na pH  $\left(-\frac{d\mu}{dpH}\right)$ :

$$\Delta pI = 3 \cdot \sqrt{\frac{D \left(\frac{dpH}{dx}\right)}{E \left(-\frac{d\mu}{dpH}\right)}}$$

## Optimalizace

Hlavní parametry, které je třeba brát v úvahu při vývoji separace, jsou:

*Napětí.* Při kapilární izoelektrické fokusaci se používá velmi vysoká intenzita elektrického pole, 300 V/cm až 1000 V/cm při fokusaci.

*Kapilára.* Podle zvolené metody mobilizace musí být snížen nebo potlačen elektroosmotický tok. Ke snížení elektroosmotického toku slouží kapiláry s pokrytou vnitřní stěnou.

*Roztoky.* Anodová nádobka je naplněna roztokem s pH nižším, než je  $pI$  nejkyselějšího amfolytu a katodová nádobka roztokem s pH vyšším, než je  $pI$  nejzásaditějšího amfolytu. Nejčastěji se používá kyselina fosforečná pro anodu a hydroxid sodný pro katodu.

Přidání polymeru, jako je např. methylcelulosa, vede k potlačení proudění a elektroosmotického toku zvýšením viskozity. Jsou dostupné komerční amfolyty v mnoha rozsazích pH, které mohou být smíchány k získání rozšířené oblasti pH. Široké rozsahy pH jsou používány k odhadu izoelektrického bodu, zatímco užší rozsahy ke zvýšení správnosti. Kalibrace se provádí přiřazením migračního času izoelektrickému bodu pro sérii standardních bílkovin (se známými hodnotami izoelektrického bodu).

Pokud je to nutné, zabráňuje se srážení bílkovin během fokusace přidáním přísad, jako např. glycerolu, tenzidů, močoviny nebo obojetných iontů (zwitteriontů), do tlumivého roztoku. V závislosti na koncentraci však močovina denaturuje bílkoviny.

## Micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC)

### Princip

Při micelární elektrokinetické chromatografii se separace provádí v elektrolytovém roztoku, který obsahuje tenzid v koncentraci vyšší než kritická micelární koncentrace ( $cmc$ ). Molekuly rozpuštěné látky jsou rozděleny mezi vodným tlumivým roztokem a pseudostacionární fází tvořenou micelami podle jeho rozdělovacího koeficientu. Tato metoda tedy může být považována za kombinaci elektroforézy a chromatografie. Je to metoda, která může být použita pro separaci jak neutrálních, tak nabitých látek při zachování účinnosti, rychlosti a instrumentální vhodnosti kapilární elektroforézy. Jedním z nejšířejí používaných tenzidů v MEKC je aniontový tenzid dodecylsírán sodný, ačkoli se také používají jiné, např. kationtové tenzidy, jako jsou soli cetyltrimethylamonné.

Separáčnı mechanismus je následující. Při neutrálním a alkalickém pH se tvoří silný elektroosmotický tok, který unáší ionty i neutrálnı molekuly separáčního tlumivého roztoku směrem ke katodě. Pokud je jako tenzid použit dodecylsírán sodný, má elektroforetická migrace aniontových micel opačný směr, tj. k anodě. Výsledkem je, že celková rychlost migrace micel je zpomalena ve srovnání s objemovým tokem elektrolytu. V případě neutrálních rozpuštěných látek, kdy se stanovovaná látka může rozdělit mezi micely a vodný tlumivý roztok a nemá elektroforetickou pohyblivost, bude migračnı rychlost stanovované látky záviset pouze na rozdělovacím koeficientu mezi micelou a vodným tlumivým roztokem. Na elektroforeogramu jsou píky nenabitých látek vždy mezi indikátorem elektroosmotického toku a indikátorem micel (čas ohraničený těmito dvěma píky se nazývá separáčnı okno). Migračnı rychlost elektricky nabitých látek závisí jak na rozdělovacím koeficientu mezi micelami a vodným tlumivým roztokem, tak na elektroforetické pohyblivosti v roztoku neobsahujícím micely.

Jelikož separační mechanismus neutrálních a slabě ionizovaných látek je v MEKC v podstatě chromatografický, migrace látky a rozlišení mohou být vysvětleny termínem kapacitní faktor látky ( $k'$ ), známý též jako kapacitní poměr ( $D_m$ ), který je poměrem látkového množství rozpuštěných látek v micelách a látkového množství rozpuštěných látek v mobilní fázi. Pro neutrální látku je  $k'$  dán vztahem:

$$k' = \frac{t_r - t_0}{t_0 \left(1 - \frac{t_r}{t_m}\right)} = K \frac{V_s}{V_m},$$

v němž značí:

$t_r$  - migrační čas rozpuštěné látky,

$t_0$  - čas analýzy nezadržované složky (určí se nástřikem indikátoru elektroosmotického toku, který nevstupuje do micel, např. methanolu),

$t_m$  - migrační čas micel (určí se nástřikem micelového indikátoru, jako je Sudan III, který migruje nepřetržitě absorbován micelami),

$K$  - rozdělovací koeficient rozpuštěné látky,

$V_s$  - objem micelární fáze,

$V_m$  - objem mobilní fáze.

Podobně je dáno rozlišení dvou těsně migrujících látek ( $R_s$ ):

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k'_a}{k'_b + 1} \cdot \frac{1 - \left(\frac{t_0}{t_m}\right)}{1 + \left(\frac{t_0}{t_m}\right) k'_a},$$

$N$  - počet teoretických pater pro jednu z látek,

$\alpha$  - selektivita,

$k'_a, k'_b$  - kapacitní faktory látek a, b.

Podobně, ale ne identicky, jsou dány rovnice pro  $k'$  a  $R_s$  elektricky nabitých látek.

## Optimalizace

Hlavní parametry, které je třeba brát v úvahu při vývoji separace pomocí MEKC, jsou parametry instrumentální a parametry roztoku elektrolytu.

### - Instrumentální parametry

**Napětí.** Čas separace je nepřímo úměrný vloženému napětí. Zvýšení napětí však může způsobit nadměrnou tvorbu tepla, které tvoří gradient teploty a viskozity v průřezu kapiláry. Tento jev může být významný při použití vysoce vodivých tlumivých roztoků, jakými jsou roztoky obsahující micely. Nedostatečný odvod tepla způsobuje rozšíření zón a snižuje rozlišení.

**Teplota.** Změny teploty v kapiláře ovlivňují rozdělovací koeficient látky mezi tlumivým roztokem a micelami, kritickou micelární koncentrací a viskozitu tlumivého roztoku. Tyto parametry přispívají k migračnímu času rozpuštěných látek. Použití dobrého chladičského systému zlepšuje reprodukovatelnost migračních časů rozpuštěných látek.

**Kapilára.** Stejně jako v kapilární elektroforéze ve volném roztoku ovlivňují rozměry kapiláry (délka a vnitřní průměr) čas analýzy a účinnost separace. Prodloužení kapiláry snižuje intenzitu elektrického pole (při konstantním napětí), zvyšuje migrační čas a zvyšuje účinnost separace. Vnitřní průměr ovlivňuje odvod tepla (pro daný tlumivý roztok a intenzitu elektrického pole) a následně rozšíření zóny vzorku.

### - Parametry roztoku elektrolytu

**Typ tenzidu a koncentrace.** Typ tenzidu ovlivňuje, stejně jako stacionární fáze v chromatografii, rozlišení, neboť spolu určuje selektivitu separace. Hodnota  $\log k'$  neutrální látky vzrůstá lineárně s koncentrací tenzidu v mobilní fázi. Protože rozlišení při MEKC dosahuje maxima, když se  $k'$  přiblíží k hodnotě  $\sqrt{\frac{t_m}{t_0}}$ , změna koncentrace tenzidu v mobilní fázi ovlivňuje dosažené rozlišení.

**pH tlumivého roztoku.** Ačkoli pH neovlivňuje rozdělovací koeficient neionizovaných látek, může ovlivnit elektroosmotický tok v nepokryté kapiláře. Snižování pH tlumivého roztoku snižuje elektroosmotický tok, a tím zvyšuje rozlišení neutrálních látek při MEKC. Výsledkem je delší čas analýzy.

*Organická rozpouštědla.* Pro zlepšení MEKC separace hydrofobních látek mohou být do roztoku elektrolytu přidána organická rozpouštědla (methanol, propanol, acetonitril atd.). Přídavek těchto rozpouštědel obvykle snižuje migrační čas a selektivitu separace. Přídavek organických rozpouštědel ovlivňuje kritickou micelární koncentraci. Proto může být daná koncentrace tenzidu použita pouze s určitou maximální koncentrací organického rozpouštědla, nad níž dochází k rozpadu micel. Rozpad micel v přítomnosti vysokého obsahu organického rozpouštědla neznamená vždy, že separace není dále možná, v některých případech tvoří hydrofobní interakce mezi monomermem iontového tenzidu a neutrálními látkami solvofobní komplexy, které mohou být separovány elektroforeticky.

*Přísady pro chirální separaci.* Pro separaci chirálních látek použitím MEKC je v micelárním systému obsažen chirální selektor buď kovalentně vázaný na tenzid, nebo přidáný do micelárního separačního média. Mezi micely tvořené molekulami, které obsahují skupiny s vlastnostmi chirálního selektoru, patří soli N-dodekanoyl-L-aminokyselin, soli žlučových kyselin atd. Chirálního rozlišení může být také dosaženo přidáním chirálního selektoru, jako jsou cyklohextriny, do elektrolytového roztoku, který obsahuje micelizovaný achirální tenzid.

*Další přísady.* Modifikace selektivity přidáním činidel do tlumivého roztoku může být prováděna různými způsoby. Přidání různých typů cyklohextrinů do tlumivého roztoku může být také použito k potlačení interakcí hydrofobních látek s micelami a tím ke zvýšení selektivity pro tento typ látek.

Ke zlepšení selektivity separace se při MEKC používá přídavku látek, které mohou ovlivnit interakci rozpuštěné látky s micelou adsorpcí na micely. Touto přísadou může být druhý tenzid (ionogenní nebo neionogenní), který způsobuje vznik směsných micel, nebo kationty kovů, které se rozpouštějí v micelách a tvoří koordinační komplexy s rozpuštěnými látkami.

## Kvantitativní analýza

Plochy píků musí být vyděleny odpovídajícími migračními časy za vzniku korigovaných ploch, aby se kompenzoval:

- posun migračních časů od analýzy k analýze, a tím zmenšil rozptyl odezvy,
- rozdíl v odezvách složek vzorku s různými migračními časy.

Pokud se použije vnitřní standard, ověří se, že žádný pik zkoumané látky není překryt pikem vnitřního standardu.

## Výpočty

Ze získaných hodnot se vypočte obsah stanovované složky nebo složek. Je-li předepsán procentuální obsah jedné nebo více složek zkoušené látky, vypočte se stanovením korigované plochy píku nebo píků jako procenta celkové korigované plochy všech píků, vyjma píků rozpouštědla nebo jakéhokoliv přidávaného činidla (metoda normalizace). Doporučuje se použití automatického integračního systému (integrátoru nebo systému pro sběr a zpracování dat).

## Způsobilost systému

Pro kontrolu chování systému kapilární elektroforézy se používají parametry způsobilosti systému. Výběr těchto parametrů závisí na použitém módu kapilární elektroforézy. Jsou to: kapacitní faktor ( $k'$ ) (pouze pro micelární elektrokinetickou chromatografii), počet teoretických pater ( $N$ ), faktor symetrie píku ( $A_s$ ) a rozlišení ( $R_s$ ). V předchozích částech byly popsány teoretické výrazy pro  $N$  a  $R_s$ , ale dále jsou uvedeny praktičtější rovnice pro výpočet těchto parametrů z elektroforeogramů.

## Počet teoretických pater

Počet teoretických pater ( $N$ ) se vypočte pomocí výrazu:

$$N = 5,54 \left( \frac{t_r}{w_h} \right)^2,$$

v němž značí:

$t_r$  - migrační čas nebo vzdálenost podél základní linie mezi bodem nástřiku a kolmicí spuštěnou z vrcholu sledovaného píku,

$w_h$  - šířku píku v polovině jeho výšky.

## Rozlišení

Rozlišení ( $R_s$ ) mezi píky dvou složek s podobnými výškami se vypočte pomocí výrazu:

$$R_s = \frac{1,18(t_{R2} - t_{R1})}{w_{h1} + w_{h2}}, \quad \text{kde } t_{R2} > t_{R1},$$

v němž značí:

$t_{R1}$  a  $t_{R2}$  - migrační časy nebo vzdálenosti podél základní linie mezi bodem nástřiku a kolmicemi spuštěnými z vrcholů dvou sousedních píků,

$w_{h1}$  a  $w_{h2}$  - šířky píků v polovině jejich výšky.

Pokud je to vhodné, může být rozlišení vypočteno změřením výšky sedla ( $H_v$ ) mezi dvěma částečně rozdělenými píky porovnávacího roztoku a výšky menšího píku ( $H_p$ ) a vypočtením poměru píku k sedlu:

$$p/v = \frac{H_p}{H_v},$$

## Faktor symetrie píku

Faktor symetrie píku ( $A_s$ ) se vypočte ze vztahu:

$$A_s = \frac{w_{0,05}}{2d},$$

v němž značí:

$w_{0,05}$  - šířka píku v jedné dvacetině jeho výšky,

$d$  - vzdálenost mezi kolmicí spuštěnou z vrcholu píku a vzestupnou částí píku v jedné dvacetině jeho výšky.

Jako parametry způsobilosti systému jsou uvedeny testy opakovatelnosti ploch (standardní odchylka ploch nebo poměrů ploch k migračním časům) a opakovatelnosti migračních časů (standardní odchylka migračních časů). Opakovatelnost migračních časů slouží jako test způsobilosti promývacího procesu kapiláry. Alternativním postupem, jak zabránit snížení opakovatelnosti migračních časů je použití relativních migračních časů vzhledem k vnitřnímu standardu.

Pro stanovení příbuzných látek je vhodná zkouška ověření poměru signálu k šumu porovnávacího roztoku (nebo určení kvantitativního limitu).

## Poměr signálu k šumu

Detekční limit odpovídá hodnotě poměru signálu k šumu rovné 3, kvantitativní limit hodnotě rovné 10.

Poměr signálu k šumu ( $S/N$ ) se vypočte ze vztahu:

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

v němž značí:

$H$  - výšku píku odpovídajícího dané složce na elektroforeogramu předepsaného porovnávacího roztoku, měřená mezi vrcholem píku a extrapolovanou základní linií signálu. Signál se sleduje v rozsahu rovném dvacetinásobku šířky píku v polovině jeho výšky,

$h$  - rozsah šumu na elektroforeogramu získaného při slepé zkoušce a zaznamenaného na vzdálenosti rovné dvacetinásobku šířky píku v polovině jeho výšky na elektroforeogramu předepsaného porovnávacího roztoku. Pokud je to možné, je tato vzdálenost situována rovnoměrně na obě strany od místa, kde by se tento pík nacházel.

“

5. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.5 Stanovení obsahu, kapitola 2.5.5 zní:

”

### 2.5.5 Číslo peroxidové



Číslo peroxidové  $I_p$  udává množství aktivního kyslíku v miliekvivalentech obsažené v peroxidické formě v 1000 g látky. Stanoví se metodami níže uvedenými.

*Není-li metoda v článku specifikována, použije se metoda A. Jakékoliv změny metody A na metodu B mají být validovány.*

#### Metoda A

5,00 g zkoušené látky ( $m$  g) se převede do 250ml kuželové baňky se zabroušenou skleněnou zátkou. Přidá se 30 ml směsi objemových dílů *chloroformu R* a *kyseliny octové ledové R* (2 + 3) a třepe se do rozpuštění látky. Potom se přidá 0,5 ml *jodidu draselného nasyceného RS*, třepe se přesně 1 min a pak se přidá 30 ml *vody R*. Titruje se *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS*, který se pomalu přidává za silného třepání do změny žlutého zbarvení na téměř bezbarvé. Potom se přidá 5 ml *škrobu RS* a pokračuje se v titraci ( $n_1$  ml *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS*) za silného třepání do odbarvení. Za stejných podmínek se provede slepá zkouška ( $n_2$  ml *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS*), při níž není spotřeba *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS* vyšší než 0,1 ml.

Číslo peroxidové se vypočítá podle vztahu:

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

#### Metoda B

*Zkouška se provádí za ochrany před aktinickým světlem.*

50 ml směsi objemových dílů *trimethylpentanu R* a *kyseliny octové ledové R* (2 + 3) se převede do kuželové baňky a uzavře se zátkou. Krouží se baňkou do rozpuštění zkoušené látky ( $m$  g; viz tabulka 2.5.5-1). Potom se vhodnou byretou přidá 0,5 ml *jodidu draselného nasyceného RS* a uzavře se zátkou. Roztok se nechá stát ( $60 \pm 1$ ) s a potom se za důkladného rovnoměrného třepání přidá 30 ml *vody R*.

Tab. 2.5.5-1

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

Roztok se titruje *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* ( $V_1$  ml), který se postupně přidává za silného třepání do změny žlutého zbarvení jodu na téměř bezbarvé. Potom se přidá 0,5 ml *škrobu RS1* a pokračuje se v titraci za stálého třepání, zvláště ke konci titrace, aby se uvolnil všechny jod z vrstvy rozpouštědla. Po kapkách se přidává thiosíran sodný, dokud se modré zbarvení právě neodbarví.

Podle spotřeby použitého *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS*, lze k titraci použít *thiosíran sodný 0,1 mol/l VS*.

*Poznámka.* Pro neutralizaci škrobového indikátoru, z důvodu oddělení horní vrstvy trimethylpentanu od vodné vrstvy, je doba nutná k přiměřenému promíchání rozpouštědla a vodné vrstvy a uvolnění zbytku jodu 15 s až 30 s pro číslo peroxidové 70 a vyšší. Doporučuje se použít *thiosíran sodný 0,1 mol/l VS* pro číslo peroxidové, jehož hodnota je vyšší než 150. Ke zpomalení separace fází a k snadnějšímu uvolňování jodu se může ke směsi přidat malé množství (0,5 % až 1,0 %) emulgátoru s vysokou hodnotou hydrofilně-lipofilní rovnováhy (HLB) (např. polysorbát 60).

Provede se slepá zkouška ( $V_0$  ml). Je-li spotřeba odměrného roztoku vyšší než 0,1 ml, stanovení se opakuje s novými zkoumadly.

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

v němž značí:

$c$  - koncentraci roztoku thiosíranu sodného v molech na litr.

“

6. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.5 Stanovení obsahu se za kapitolu 2.5.32 doplňuje kapitola 2.5.33 a kapitola 2.5.34, které znějí:

”

### 2.5.33 Celkové bílkoviny



Mnohé metody stanovení obsahu popsané v této kapitole mohou být provedeny za použití komerčně dostupných souprav.

#### Metoda 1

Bílkovina v roztocích absorbuje ultrafialové světlo při vlnové délce 280 nm, což je způsobeno přítomností aromatických aminokyselin ve struktuře bílkoviny, hlavně tyrosinu a tryptofanu. Tato vlastnost může být využita pro stanovení obsahu. Jestliže tlumivý roztok použitý k rozpuštění bílkoviny má vyšší absorbanci než voda, obsahuje rušící látky. Toto rušení může být odstraněno použitím tlumivého roztoku jako kontrolní kapaliny, ale přesto mohou být výsledky ovlivněny, pokud rušící látky mají vysokou absorbanci. Při nízkých koncentracích bílkovina adsorbovaná na květu může výrazně snížit obsah bílkoviny v roztoku, což může být předem vyloučeno přípravou vzorků o vyšší koncentraci nebo použitím neionogenních detergentů při přípravě.

*Zkoušený roztok.* Vhodné množství zkoušené látky se rozpustí v předepsaném tlumivém roztoku tak, aby koncentrace bílkoviny v získaném roztoku byla v rozmezí 0,2 mg/ml až 2 mg/ml.

*Porovnávací roztok.* Připraví se roztok vhodné referenční látky pro stanovení bílkovin rozpuštěné ve stejném tlumivém roztoku a o stejné koncentraci bílkoviny jako zkoušený roztok.

*Postup.* Zkoušený roztok, porovnávací roztok a kontrolní kapalina se během této zkoušky udržují při stejné teplotě. Měří se absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku v křemenných květech při 280 nm proti předepsanému tlumivému roztoku jako kontrolní kapalíně. K získání správných výsledků musí být odezva lineární v rozmezí koncentrací bílkoviny.

*Rozptyl světla.* Přesnost stanovení bílkoviny může být zmenšena rozptylem světla ve zkoušeném vzorku. Jestliže se bílkoviny v roztoku vyskytují jako částice srovnatelné velikostí s vlnovou délkou měřeného světla (250 nm až 300 nm), rozptyl světelných paprsků vyvolá vzrůst absorbance zkoušeného vzorku. Pro výpočet absorbance při 280 nm způsobené rozptylem světla se změří absorbance zkoušeného roztoku při vlnových délkách 320 nm, 325 nm, 330 nm, 335 nm, 340 nm, 345 nm a 350 nm. Sestrojí se závislost logaritmu získaných absorbancí proti logaritmu vlnových délek a sestrojí se kalibrační křivka proložení nejvhodnějších bodů lineární regresí. Křivka se extrapoluje k získání logaritmu absorbance při 280 nm. Antilogaritmus této hodnoty je absorbance přisuzovaná rozptylu světla. K získání hodnoty absorbance bílkoviny v roztoku se získané hodnoty korigují odečtením absorbance přisuzované rozptylu světla od celkové absorbance při 280 nm. Ke snížení vlivu rozptylu světla může být použita filtrace přes filtr (0,2 μm), který neadsorbuje bílkoviny, nebo vyčeření odstředěním, zvláště, je-li roztok nápadně zakalený.

*Výpočty.* Pro výpočet se použijí korigované hodnoty. Koncentrace bílkoviny ve zkoušeném roztoku ( $C_U$ ) se vypočítá podle následujícího vztahu:

$$C_U = C_S(A_U/A_S),$$



v němž značí:

$C_S$  - koncentraci bílkoviny v porovnávacím roztoku,

$A_U$  - korigovanou absorbančí zkoušeného roztoku,

$A_S$  - korigovanou absorbančí porovnávacího roztoku.

## Metoda 2

Tato metoda (obvykle uváděná jako Lowryho stanovení) je založena na redukci fosfomolybdenan-wolframového směsného chromoforu bílkovinou ve zkoumadlu fosfomolybdenan-wolframovém, který vykazuje absorpční maximum při 750 nm. Zkoumadlo fosfomolybdenan-wolframové nejdříve reaguje se zbytky tyrosinu v bílkovině. Intenzita zbarvení je nejvyšší po 20 min až 30 min stání při pokojové teplotě, po této době se intenzita zbarvení postupně ztrácí.

Protože tato metoda je citlivá na rušící látky, může se použít postup srážení bílkoviny ze zkoušeného vzorku. Většina rušících látek vyvolává odbarvování, avšak naopak některé detergenty vyvolávají slabý růst intenzity zbarvení. Vysoké koncentrace solí mohou vyvolávat tvorbu sraženiny. Referenční látka a zkoušená bílkovina musí být shodné, protože různé druhy bílkovin mohou způsobit různou intenzitu zbarvení. Tam, kde je nutné oddělení rušících látek od bílkoviny ve zkoušeném vzorku, je třeba před přípravou vzorku provést oddělení rušících látek níže uvedeným postupem. Vliv rušících látek může být minimalizován naředěním tak, aby koncentrace zkoušené bílkoviny zůstala dostatečná pro přesné měření.

K přípravě všech tlumivých roztoků a zkoumadel použitých v této metodě se použije *voda destilovaná R*.

**Zkoušený roztok.** Vhodné množství zkoušené látky se rozpustí v předepsaném tlumivém roztoku tak, aby koncentrace získaného roztoku byla v rozmezí kalibrační křivky. Vhodný tlumivý roztok udržuje pH roztoku na hodnotě 10,0 až 10,5.

**Porovnávací roztoky.** Referenční látka pro stanovení bílkoviny se rozpustí v předepsaném tlumivém roztoku. Tento roztok se dále zředí stejným tlumivým roztokem tak, aby se získalo nejméně pět porovnávacích roztoků o koncentraci bílkoviny rovnoměrně rozložené ve vhodném rozmezí mezi 5  $\mu\text{g/ml}$  a 100  $\mu\text{g/ml}$ .

**Kontrolní roztok.** Použije se tlumivý roztok použitý k přípravě zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků.

**Zkoumadlo se síranem měďnatým.** 100 mg *síranu měďnatého R* a 0,2 g *vinanu sodného R* se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 50 ml. Pomalu za míchání se lije roztok uhličitanu sodného do roztoku síranu měďnatého. Použije se během 24 h.

**Alkalické zkoumadlo s mědí.** Smíchají se objemové díly zkoumadla se síranem měďnatým, roztoku *dodecylsíranu sodného R* (50 g/l) a roztoku *hydroxidu sodného R* (32 g/l) (1 + 2 + 1). Uchovává se při pokojové teplotě a použije se během 2 týdnů.

**Zkoumadlo fosfomolybdenan-wolframové zředěné.** Smíchá se 5 ml *zkoumadla fosfomolybdenan-wolframového R* s 55 ml *vody destilované R*. Uchovává se v hnědé nádobě při pokojové teplotě.

**Postup.** K 1,0 ml každého porovnávacího roztoku, zkoušeného roztoku a kontrolního roztoku se přidá po 1,0 ml alkalického zkoumadla s mědí a promíchá se. Nechá se stát 10 min. Přidá se po 0,5 ml zkoumadla fosfomolybdenan-wolframového zředěného, promíchá se a nechá se stát 30 min při pokojové teplotě. Absorbance (2.2.25) roztoků se měří při 750 nm proti kontrolnímu roztoku.

**Výpočty.** Závislost absorbance na koncentraci bílkoviny je nelineární; avšak, je-li rozmezí koncentrací použitých k přípravě kalibrační křivky dostatečně malé, blíží se přímce. Vynesou se absorbance porovnávacích roztoků proti koncentracím bílkoviny a použitím lineární regrese se sestojí kalibrační křivka, z níž se za použití naměřené absorbance odečte koncentrace bílkoviny ve zkoušeném roztoku.

**Rušící látky.** V následujícím postupu se před stanovením ke zkoušenému vzorku přidává kyselina deoxycholéová-trichloroacetová k odstranění rušících látek vysrážením bílkovin; tento postup může být též použit k zahuštění bílkovin ze zředěných roztoků.

K 1 ml roztoku zkoušené látky se přidá 0,1 ml roztoku *natriumdeoxycholatu R* (1,5 g/l). Promíchá se vířivou míchačkou a nechá se stát 10 min při pokojové teplotě. Přidá se 0,1 ml roztoku *kyseliny trichloroacetové R* (720 g/l) a promíchá se vířivou míchačkou. Odstředí se 30 min při 3000  $g_n$ , kapalina se dekantuje a zbytek tekutiny se odstraní pipetou. Sbalená bílkovina se znovu rozpustí v 1 ml alkalického zkoumadla s mědí.

### Metoda 3

Tato metoda (obvykle uváděná jako Bradfordovo stanovení) je založena na absorpčním posunu z 470 nm na 595 nm, který se získá, jestliže modř kyselá 90 se naváže na bílkovinu. Nejzřetelněji se modř kyselá 90 naváže na zbytky argininu a lysinu v bílkovině, což může vést ke změnám v odezvě obsahu různých bílkovin. Bílkovina použitá jako referenční látka musí být proto shodná se stanovovanou bílkovinou. Existuje relativně málo rušících látek, ale je dávana přednost nepoužití detergentů a amfolytů ve zkoušeném vzorku. Silně alkalické vzorky mohou interferovat s kyselými zkoumadly.

K přípravě všech tlumivých roztoků a zkoumadel použitých v této metodě se použije *voda destilovaná R*.  
*Zkoušený roztok.* Vhodné množství zkoušené látky se rozpustí v předepsaném tlumivém roztoku tak, aby absorbance získaného roztoku byla v rozmezí kalibrační křivky.

*Porovnávací roztoky.* Referenční látka pro stanovení bílkoviny se rozpustí v předepsaném tlumivém roztoku. Tento roztok se zředí stejným tlumivým roztokem tak, aby se získalo nejméně pět porovnávacích roztoků o koncentraci bílkoviny rovnoměrně rozložené ve vhodném rozmezí mezi 0,1 mg/ml a 1 mg/ml.

*Kontrolní roztok.* Použije se tlumivý roztok použitý k přípravě zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků.

*Zkoumadlo s modří kyselou 90.* 0,10 g *modří kyselé 90 R* se rozpustí v 50 ml *lihu 96% R*, přidá se 100 ml *kyseliny fosforečné R*, zředí se *vodou destilovanou R* na 1000 ml a promíchá se. Tento roztok se zfiltruje a uchovává se v hnědé nádobě při pokojové teplotě. Během uchovávání se pomalu vylučuje sraženina. Před použitím se roztok zfiltruje.

*Postup.* K 0,100 ml každého porovnávacího roztoku, zkoušeného roztoku a kontrolního roztoku se přidá po 5 ml zkoumadla s modří kyselou 90 a promíchají se převrácením. Je třeba se vyvarovat pění, které může ovlivnit reprodukovatelnost. Absorbance (2.2.25) roztoků se měří při 595 nm proti kontrolnímu roztoku.

Nepoužívají se křemenné kyvetky, protože se barvivo váže na tento materiál.

*Výpočty.* Závislost absorbance na koncentraci bílkoviny je nelineární; avšak, je-li rozmezí koncentrací použitých k přípravě kalibrační křivky dostatečně malé, blíží se přímce. Vynesou se absorbance porovnávacích roztoků proti koncentracím bílkoviny a použitím lineární regrese se sestrojí kalibrační křivka, z níž za použití absorbance se odečte koncentrace bílkoviny ve zkoušeném roztoku.

### Metoda 4

Tato metoda (obvykle uváděná jako stanovení obsahu kyselinou bicinchoninovou neboli BCA) je založena na redukci měďnatých iontů ( $\text{Cu}^{2+}$ ) na měďné ( $\text{Cu}^+$ ) bílkovinou. Zkoumadlo BCA se používá k detekci měďných iontů. Reakci ruší některé látky. Vliv rušících látek může být snížen zředěním tak, aby koncentrace zkoušené bílkoviny zůstala dostatečná pro přesné měření. Alternativně se může použít k odstranění rušících látek postup srážení bílkoviny uvedený v metodě 2. Referenční látka a zkoušená bílkovina musí být stejné, protože různé druhy bílkovin reagují různou barevnou intenzitou.

K přípravě všech tlumivých roztoků a zkoumadel použitých v této metodě se použije *voda destilovaná R*.

*Zkoušený roztok.* Vhodné množství zkoušené látky se rozpustí v předepsaném tlumivém roztoku tak, aby koncentrace roztoku byla v rozmezí koncentrací porovnávacích roztoků.

*Porovnávací roztoky.* Referenční látka pro stanovení bílkoviny se rozpustí v předepsaném tlumivém roztoku. Tento roztok se zředí stejným tlumivým roztokem tak, aby se získalo nejméně pět porovnávacích roztoků o koncentraci bílkoviny rovnoměrně rozložené ve vhodném rozmezí mezi 10  $\mu\text{g/ml}$  a 1200  $\mu\text{g/ml}$ .

*Kontrolní roztok.* Použije se tlumivý roztok použitý k přípravě zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků.

*BCA zkoumadlo.* 10 g *dinatriumbicinchoninatu R*, 20 g *uhličitanu sodného monohydrátu R*, 1,6 g *vínanu sodného R*, 4 g *hydroxidu sodného R* a 9,5 g *hydrogenuhlčitanu sodného R* se rozpustí ve *vodě destilované R*. Je-li třeba, upraví se pH roztokem *hydroxidu sodného R* nebo roztokem *hydrogenuhlčitanu sodného R* na hodnotu 11,25, zředí se *vodou destilovanou R* na 1000 ml a promíchá se.

*BCA zkoumadlo s mědí.* Smíchá se 1 ml roztoku *síranu měďnatého R* (40 g/l) s 50 ml BCA zkoumadla.

*Postup.* 0,1 ml každého porovnávacího roztoku, zkoušeného roztoku a kontrolního roztoku se smíchá se 2 ml BCA zkoumadla s mědí. Roztoky se udržují 30 min při 37 °C, zaznamená se čas a směs se ochladí na pokojovou teplotu. Do 60 min od konce inkubace se měří absorbance (2.2.25) porovnávacích roztoků a zkoušeného roztoku v křemenných kyvetkách při 562 nm proti kontrolnímu roztoku. Po ochlazení roztoků na pokojovou teplotu se intenzita zbarvení pravidelně zvyšuje.

*Výpočty.* Závislost absorpance na koncentraci bílkoviny je nelineární; avšak, je-li rozmezí koncentrací použitých k přípravě kalibrační křivky dostatečně malé, blíží se přímce. Vynesou se absorpance porovnávacích roztoků proti koncentracím bílkoviny a použitím lineární regrese se sestrojí kalibrační křivka, z níž se za použití naměřené absorpance odečte koncentrace bílkoviny ve zkoušeném roztoku.

#### Metoda 5

Tato metoda (obvykle uváděna jako biuretové stanovení obsahu) je založena na interakci měďnatých iontů ( $\text{Cu}^{2+}$ ) s bílkovinou v alkalickém roztoku; výsledná absorpance se měří při 545 nm. Tato zkouška vykazuje minimální rozdíly mezi ekvivalentem IgG a vzorky albuminu. Přidání hydroxidu sodného a zkoumadla biuretového jako složeného zkoumadla, nedostatečné promíchání po přidavku hydroxidu sodného a nebo nadbytečná doba mezi přidavkem hydroxidu sodného a přidavkem zkoumadla biuretového mohou způsobit u vzorků IgG vyšší odezvu než u vzorků albuminu. K minimalizaci vlivu rušících látek na stanovení bílkovin se může použít metoda kyseliny trichloroocetové u zkoušených vzorků s obsahem bílkoviny nižším než 500  $\mu\text{g/ml}$ .

K přípravě všech tlumivých roztoků a zkoumadel použitých v této metodě se použije *voda destilovaná R*.

*Zkoušený roztok.* Vhodné množství zkoušené látky se rozpustí v roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) tak, aby koncentrace roztoku byla v rozmezí koncentrací porovnávacích roztoků.

*Porovnávací roztoky.* Referenční látka pro stanovení bílkoviny se rozpustí v roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l). Tento roztok se zředí roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) tak, aby se získaly nejméně tři porovnávací roztoky o koncentraci bílkoviny rovnoměrně rozložené ve vhodném rozmezí mezi 0,5 mg/ml a 10 mg/ml.

*Kontrolní roztok.* Použije se roztok *chloridu sodného R* (9 g/l).

*Zkoumadlo biuretové.* 3,46 g *síranu měďnatého R* se rozpustí v 10 ml horké *vody destilované R* a nechá se ochladit (roztok A). 34,6 g *citronanu sodného R* a 20,0 g *uhličitanu sodného bezvodého R* se rozpustí v 80 ml horké *vody destilované R* a nechá se ochladit (roztok B). Roztoky A a B se smíchají a zředí se *vodou destilovanou R* na 200 ml. Použije se během 6 měsíců. Zkoumadlo nelze použít, jestliže se zakalí nebo obsahuje-li sraženinu.

*Postup.* K jednomu objemovému dílu zkoušeného roztoku se přidá stejný objemový díl roztoku *hydroxidu sodného R* (60 g/l) a promíchá se. Ihned se přidá zkoumadlo biuretové, odpovídající 0,4 objemovým dílům zkoušeného roztoku, a rychle se promíchá. Nechá se stát nejméně 15 min při 15 °C až 25 °C. Během 90 min po přidání biuretového zkoumadla se měří absorpance (2.2.25) porovnávacích roztoků a zkoušeného roztoku v maximu při 545 nm proti kontrolnímu roztoku. Pro výpočet obsahu bílkoviny se nepoužije žádný z roztoků, který měl zákal nebo sraženinu.

*Výpočet.* Závislost absorpance na koncentraci bílkoviny je téměř lineární v daném rozmezí koncentrací bílkoviny v porovnávacích roztocích. Vynesou se absorpance porovnávacích roztoků proti koncentracím bílkoviny a použitím lineární regrese se sestrojí kalibrační křivka. Vypočítá se korelační koeficient kalibrační křivky. Vhodný systém je takový jehož přímka má korelační koeficient nejméně 0,99. Z kalibrační křivky se za použití naměřené absorpance odečte koncentrace bílkoviny ve zkoušeném roztoku.

*Rušící látky.* Aby se minimalizoval vliv rušících látek, může se bílkovina ze zkoušené látky srážet takto: 0,1 objemového dílu roztoku *kyseliny trichloroocetové R* (500 g/l) se přidá k 1 objemovému dílu zkoušeného roztoku, supernatantní tekutina se odstraní, sraženina se rozpustí v malém množství *hydroxidu sodného 0,5 mol/l RS*. Tento roztok se použije k přípravě zkoušeného roztoku.

#### Metoda 6

Tato fluorimetrická metoda je založena na derivatizaci bílkoviny s *o*-ftalaldehydem, který reaguje s primárními aminy bílkoviny (N-terminální aminokyseliny a  $\epsilon$ -aminoskupiny lysinových zbytků). Citlivost zkoušky může být zvýšena hydrolyzou bílkoviny provedenou před přidavkem *o*-ftalaldehydu. Hydrolyza umožňuje  $\alpha$ -aminoskupinám obsaženým v aminokyselinách reagovat se zkoumadlem ftalaldehydovým. Tato metoda vyžaduje velmi malá množství bílkoviny. Je nutné se vyvarovat nebo vyloučit primární aminy, jako např. trometamol a tlumivé roztoky s aminokyselinami, protože reagují se zkoumadlem ftalaldehydovým. Amoniak při vysoké koncentraci reaguje s ftalaldehydem. Reagují-li aminy s ftalaldehydem, je získaná fluorescence nestabilní. Použití automatizovaného postupu ke standardizaci tohoto postupu může zlepšit správnost a přesnost zkoušky.

K přípravě všech tlumivých roztoků a zkoumadel použitých v této metodě se použije *voda destilovaná R*.

*Zkoušený roztok.* Vhodné množství zkoušené látky se rozpustí v roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) tak, aby koncentrace roztoku byla v rozmezí koncentrací porovnávacích roztoků. Před přidáním zkoumadla ftalaldehydového se upraví pH na hodnotu 8 až 10,5.

**Porovnávací roztoky.** Referenční látka pro stanovení bílkoviny se rozpustí v roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l). Tento roztok se zředí roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) tak, aby se získalo nejméně pět porovnávacích roztoků o koncentraci bílkoviny rovnoměrně rozložené ve vhodném rozmezí mezi 10 µg/ml a 200 µg/ml. Před přidáním zkoumadla ftalaldehydového se upraví pH na hodnotu 8 až 10,5.

**Kontrolní roztok.** Použije se roztok *chloridu sodného R* (9 g/l).

**Tlumivý roztok boritanový.** 61,83 g *kyseliny borité R* se rozpustí ve *vodě destilované R*, upraví se pH roztokem *hydroxidu draselného R* na hodnotu 10,4, zředí se *vodou destilovanou R* na 1000 ml a promíchá se.

**Ftalaldehydový zásobní roztok.** 1,20 g *ftaldialdehydu R* se rozpustí v 1,5 ml *methanolu R*, přidá se 100 ml tlumivého roztoku boritanového a promíchá se. Přidá se 0,6 ml roztoku *lauromakrogolu 23 R* (300 g/l) a promíchá se. Uchovává se při pokojové teplotě a použije se během tří týdnů.

**Zkoumadlo ftalaldehydové.** K 5 ml ftalaldehydového zásobního roztoku se přidá 15 µl *2-merkptoethanolu R*. Připraví se nejméně 30 min před použitím. Použije se během 24 h.

**Postup.** 10 µl zkoušeného roztoku a po 10 µl každého z porovnávacích roztoků se smíchá s 0,1 ml zkoumadla ftalaldehydového a nechá se stát 15 min při pokojové teplotě. Přidají se 3 ml *hydroxidu sodného 0,5 mol/l RS* a promíchá se. Měří se intenzity fluorescence (2.2.21) porovnávacích roztoků a zkoušeného roztoku při excitační vlnové délce 340 nm a emisní vlnové délce v rozmezí 440 nm až 455 nm. Fluorescence daného vzorku se měří jen jednou, neboť záření snižuje intenzitu fluorescence.

**Výpočty.** Závislost fluorescence na koncentraci bílkoviny je lineární. Vynesou se intenzity fluorescence porovnávacích roztoků proti koncentracím bílkoviny a použitím lineární regrese se sestrojí kalibrační křivka. Z kalibrační křivky a z intenzity fluorescence zkoušeného roztoku se stanoví koncentrace bílkoviny ve zkoušeném roztoku.

## Metoda 7

Tato metoda je založena na dusíkové analýze jako prostředku stanovení bílkovin. Rušení způsobené přítomností dalších látek obsahujících dusík ve zkoušené látce může ovlivnit stanovení bílkoviny touto metodou. Metodou stanovení dusíku se vzorek během analýzy rozkládá, ale metoda není omezena na přítomnost bílkoviny ve vodných prostředcích.

**Postup A.** Provede se postupem uvedeným ve zkoušce Dusík mineralizací s kyselinou sírovou (2.5.9), nebo se použije komerčně dostupné zařízení pro stanovení dusíku podle Kjeldahla.

**Postup B.** Komerčně dostupné zařízení lze použít pro dusíkovou analýzu. Nejpoužívanější instrumentální metodou je pyrolýza (tj. spalování vzorku v kyslíku při teplotách blízkých se 1000 °C), při které z dusíku přítomného ve zkoušené látce vznikají oxid dusnatý (NO) a další oxidy dusíku (NO<sub>x</sub>). Některá zařízení mění oxidy dusíku na dusík (plyn), který se stanovuje termálně vodivostním detektorem. Jiná zařízení míchají oxid dusnatý (NO) s ozonem (O<sub>3</sub>) za vzniku excitovaného oxidu dusičitého (NO<sub>2</sub><sup>\*</sup>), který při rozpadu emituje světlo a může být stanoven chemiluminiscenčním detektorem. Referenční bílkovina, která je relativně čistá a složením se shoduje se zkoušenými bílkovinami, se používá k optimalizaci nástřiků a parametrů pyrolýzy a k dosažení konzistence při analýze.

**Výpočty.** Koncentrace bílkoviny se vypočítá dělením obsahu dusíku ve vzorku o známé koncentraci obsahu bílkoviny. Známý obsah dusíku bílkoviny může být stanoven z chemického složení bílkoviny nebo porovnáním s vhodnou referenční látkou.

### 2.5.34 Kyselina octová v syntetických peptidech



2001

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** Připraví se způsobem popsaným v článku.

**Porovnávací roztok.** Připraví se roztok *kyseliny octové ledové R* (0,10 g/l) ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (5 + 95).

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 1,2 ml/min:
  - *mobilní fáze A* - 0,7 ml *kyseliny fosforečné R* se zředí *vodou R* na 1000 ml; pH se upraví *hydroxidem sodným koncentrovaným RS* na hodnotu 3,0,
  - *mobilní fáze B* - *methanol R2*,

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
20 - 22	50 → 95	50 → 5
22 - 30	95	5

- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku a 10 µl zkoušeného roztoku. Na získaných chromatogramech je retenční čas kyseliny octové 3 min až 4 min. Základní linie představuje strmý vzestup po začátku lineárního gradientu, který odpovídá eluci peptidu z kolony. Stanoví se obsah kyseliny octové v peptidu.

“

7. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.6 Biologické zkoušky, kapitola 2.6.14 zní:

”

#### 2.6.14 Bakteriální endotoxiny



2001

Zkouška na bakteriální endotoxiny se používá k důkazu nebo stanovení endotoxinů pocházejících z gramnegativních bakterií za použití lyzátů z amebocytů ostrorepa (*Limulus polyphemus* nebo *Tachypleus tridentatus*). Ke zkoušce se používají tři metody: gelová, která je založena na tvorbě gelu, turbidimetrická, založená na vývoji zákalu po vazbě endogenního substrátu, a chromogenní, založená na vývoji zbarvení po vazbě se syntetickým peptidochromogenním komplexem.

V této stati je popsáno šest metod:

Metoda A. Gelová metoda: limitní zkouška

Metoda B. Gelová metoda: semikvantitativní zkouška

Metoda C. Turbidimetrická kinetická metoda

Metoda D. Chromogenní kinetická metoda

Metoda E. Chromogenní metoda konečného bodu

Metoda F. Turbidimetrická metoda konečného bodu

Zkouška se provede kteroukoli ze šesti metod. V případě nejistého nebo sporného výsledku, není-li v článku uvedeno jinak, se učiní konečné rozhodnutí podle metody A.

Zkouška se provádí způsobem, který vylučuje kontaminaci endotoxinem.

#### Zařízení

Z veškerého skla a ostatního tepelně odolného zařízení se endotoxin odstraní validovaným postupem v horkovzdušném sterilizátoru. Obvykle používaný minimální čas a teplota jsou 30 min a 250 °C. Používají-li se zařízení z plastu, jako např. mikrotitrační destičky a pipetovací špičky k automatickým pipetám, použije se materiál, který je prokazatelně prostý detegovatelného endotoxinu a interferujících účinků.

*Poznámka. V této stati jsou označením zkumavka míněny všechny druhy nádob, včetně jamek mikrotitrační destičky.*

### Příprava zásobního roztoku standardního endotoxinu

Připravuje se z referenčního standardního endotoxinu, který byl kalibrován proti mezinárodnímu standardu, např. *referenční endotoxin BRP*.

Účinnost endotoxinu se vyjadřuje v mezinárodních jednotkách. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

*Poznámka. Jedna mezinárodní jednotka (m.j.) endotoxinu se rovná jedné endotoxinové jednotce (e.j.).*

Příprava a uchování zásobního roztoku standardního endotoxinu se provádí postupem uvedeným v příbalové informaci a v označení na obalu.

### Příprava roztoků standardního endotoxinu

Zásobní roztok standardního endotoxinu se silně protřepe a připraví se z něho odpovídající sériová ředění ve vodě pro zkoušku na bakteriální endotoxiny (voda pro BET).

Ředění se použijí co nejdříve, aby se zabránilo poklesu účinnosti způsobenému adsorpcí.

### Příprava roztoků ke zkoušení

Roztoky ke zkoušení se připraví rozpuštěním nebo naředěním účinné látky nebo léčivého přípravku ve vodě pro BET. Některé látky nebo přípravky je vhodnější rozpouštět nebo ředit v jiných vodných roztocích. Je-li třeba, upraví se pH zkoušeného roztoku nebo jeho ředění tak, aby pH směsi lyzátu a zkoušeného roztoku bylo v rozmezí stanoveném výrobcem lyzátu. To je u přípravků obvykle v rozsahu pH 6,0 až 8,0; pH je možno upravit kyselinou, zásadou nebo vhodným tlumivým roztokem podle doporučení výrobce lyzátu. Kyseliny a zásady se mohou připravit z koncentrátů nebo z pevné látky a vody pro BET v nádobách prostých detegovatelného endotoxinu. Tlumivé roztoky se validují, že neobsahují detegovatelný endotoxin ani interferující faktory.

### Stanovení nejvyššího účinného ředění

Nejvyšší účinné ředění (MVD) je nejvyšší přípustné ředění vzorku, ve kterém ještě lze stanovit limitní koncentraci endotoxinu MVD. Vypočítá podle vzorce:

$$MVD = \frac{\text{limitní koncentrace endotoxinu} \times \text{koncentrace zkoušeného roztoku}}{\lambda}$$

*Limitní koncentrace endotoxinu.* Pro účinné látky k parenterálnímu podání se limitní koncentrace endotoxinu vypočítá na základě dávky ze vzorce:

$$\frac{K}{M},$$

v němž značí:

*K* - prahovou pyrogenní dávku endotoxinu na kilogram tělesné hmotnosti za hodinu,

*M* - nejvyšší doporučenou dávku přípravku na kilogram tělesné hmotnosti za hodinu.

Limitní koncentrace endotoxinu se u účinných látek pro parenterální podání v člancích uvádí v jednotkách, jako např. m.j./ml, m.j./mg, m.j./j. biologické účinnosti.

*Koncentrace zkoušeného roztoku:*

- v mg/ml, jestliže limitní koncentrace endotoxinu je uvedena na hmotnost (m.j./mg),

- v m.j./ml, jestliže limitní koncentrace endotoxinu je uvedena na jednotku biologické účinnosti (m.j./j.),

- v ml/ml, jestliže limitní koncentrace endotoxinu je uvedena na objem (m.j./ml).

$\lambda$  - deklarovaná citlivost lyzátu naměřená gelovou metodou (m.j./ml) nebo nejnižší koncentrace endotoxinu použitá při přípravě standardní křivky turbidimetrickou nebo chromogenní metodou.

## GELOVÁ METODA (METODY A a B)

Gelová metoda umožňuje detekci nebo kvantitativní stanovení endotoxinů a spočívá ve vysrážení lyzátu v přítomnosti endotoxinů. Koncentrace endotoxinů, která způsobí vysrážení lyzátu za standardních podmínek, je deklarovaná citlivost lyzátu. Pro ověření přesnosti a validity zkoušky se ověří citlivost lyzátu a provede se zkouška na interferující faktory, jak je popsáno v části 1. Předběžné zkoušení.

### 1. PŘEDBĚŽNÉ ZKOUŠENÍ

#### (i) Ověření deklarované citlivosti lyzátu

Před použitím ve zkoušce se deklarovaná citlivost  $\lambda$ , vyjádřená v m.j./ml, ověří na čtyřech vzorcích. Ověření citlivosti lyzátu se provede v případě, že se použije nová šarže lyzátu nebo dojde-li ke změně podmínek zkoušky, které by mohly ovlivnit její výsledek.

Naředěním zásobního roztoku standardního endotoxinu vodou pro BET se připraví nejméně čtyři koncentrace referenčních roztoků odpovídající  $2\lambda$ ,  $\lambda$ ,  $0,5\lambda$  a  $0,25\lambda$ .

Jeden objem roztoku lyzátu se smíchá se stejným objemem jednoho z ředění referenčního roztoku (např. objemy 0,1 ml) ve zkumavce. Jestliže se použijí zkumavky nebo ampule s obsahem lyofilizovaného lyzátu pro jednu zkoušku, přidají se roztoky přímo do zkumavky nebo do ampule. Směs se inkubuje za konstantních podmínek doporučených výrobcem lyzátu (obvykle  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,  $(60 \pm 2)$  min) za vyloučení vibrací. Zkouška celistvosti gelu: každá ze čtyř zkumavek se vyjme z termostatu a otočí plynulým pohybem vzhůru o  $180^\circ$ . Jestliže se vytvořil pevný gel, který po otočení zkumavky zůstane na místě, hodnotí se výsledek jako pozitivní. Výsledek je negativní, jestliže nevznikne celistvý gel.

Zkoušku nelze hodnotit, jestliže nejnižší koncentrace referenčních roztoků dává ve všech zkumavkách negativní výsledek.

Konečný bod je poslední pozitivní výsledek v sériových ředěních endotoxinu. Vypočítá se průměrná hodnota logaritmů koncentrací konečného bodu a poté antilogaritmus průměrné hodnoty pomocí následujícího vzorce:

$$\text{Geometrický průměr koncentrace konečného bodu} = \text{antilog } \frac{\sum e}{f},$$

v němž značí:

$\sum e$  - součet logaritmů koncentrací konečného bodu použitých řad ředění,

$f$  - počet zkumavek.

Geometrický průměr koncentrací konečných bodů je naměřená citlivost roztoku lyzátu (m.j./ml). Jestliže je výsledek v rozmezí  $0,5\lambda$  až  $2\lambda$ , je deklarovaná citlivost potvrzena a používá se ve zkouškách s tímto lyzátem.

#### (ii) Zkouška na interferující faktory

Připraví se roztoky A, B, C a D podle tabulky 2.6.14-1 a použijí se zkoušené roztoky v ředění nižším než MVD tak, aby neobsahovaly detegovatelné množství endotoxinů a provede se zkouška postupem uvedeným v části 1. Předběžné zkoušení, (i) Ověření deklarované citlivosti lyzátu.

Geometrický průměr koncentrací konečných bodů roztoků B a C se stanoví za použití pojmů uvedených v části 1. Předběžné zkoušení, (i) Ověření deklarované citlivosti lyzátu.

Zkouška na interferující faktory se opakuje, jestliže nastaly nějaké změny v experimentálních podmínkách, které pravděpodobně ovlivní výsledek zkoušky.

Tab. 2.6.14-1

Roztok	Koncentrace endotoxinu/ roztok, k němuž se endotoxin přidá	Ředidlo	Ředicí faktor	Počáteční kon- centrace endoto- xinu	Počet zkumavek
A	žádná/zkoušený roztok	-	-	-	4
B	2λ/zkoušený roztok	zkoušený roztok	1	2λ	4
			2	1λ	4
			4	0,5λ	4
			8	0,25λ	4
C	2λ/voda pro BET	voda pro BET	1	2λ	2
			2	1λ	2
			4	0,5λ	2
			8	0,25λ	2
D	žádná/voda pro BET	-	-	-	2

Roztok A - roztok zkoušeného přípravku bez detegovatelných endotoxinů,

Roztok B - zkouška na interferující faktory,

Roztok C - kontrola deklarované citlivosti lyzátu,

Roztok D - negativní kontrola (voda pro BET).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže v žádné zkumavce roztoků A a D nedojde k reakci a výsledek v roztoku C potvrdí deklarovanou citlivost lyzátu.

Jestliže citlivost lyzátu stanovená v roztoku B není nižší než 0,5λ a není vyšší než 2λ, zkoušený roztok v daných podmínkách neobsahuje interferující faktory. Jinak roztok interferuje se zkouškou.

Jestliže přípravek interferuje v podmínkách zkoušky a jeho ředění je nižší než MVD, zkouška na přítomnost interferujících látek se opakuje s vyšším ředěním, které však nepřesahuje MVD. Použití lyzátu o vyšší citlivosti umožňuje vyšší ředění zkoušeného přípravku a to může přispět k vyloučení interference.

Interference může být odstraněna vhodným postupem, jako je filtrace, neutralizace, dialýza nebo zahřátí. Průkaz, že zvoleným postupem byly účinně odstraněny interferující faktory bez ztráty endotoxinů, se provede opakovanou zkouškou na interferující faktory s tím, že se ke zkoušenému přípravku přidá standardní endotoxin a pak se provede zvolený postup.

## 2. LIMITNÍ ZKOUŠKA (METODA A)

### (i) Postup

Připraví se roztoky A, B, C a D podle tabulky 2.6.14-2 a zkouška se provede postupem uvedeným v části 1. Předběžné zkoušení, (i) Ověření deklarované citlivosti lyzátu.

Tab. 2.6.14-2

Roztok	Koncentrace endotoxinu/roztok, ke kterému byl přidán endotoxin	Počet zkumavek
A	bez endotoxinu/ředěný zkoušený roztok	2
B	2λ/ředěný zkoušený roztok	2
C	2λ/voda pro BET	2
D	bez endotoxinu/voda BET	2

Připraví se roztoky A a B (pozitivní kontrola vzorku) v ředění nepřesahujícím MVD a použijí se postupy uvedené v části 1. Předběžné zkoušení (ii) Zkouška na interferující faktory. Roztoky B a C (pozitivní kontroly) obsahují standardní endotoxin v koncentraci odpovídající dvojnásobku deklarované citlivosti lyzátu. Roztok D (negativní kontrola) obsahuje vodu pro BET.

### (ii) Hodnocení



Zkoušku lze hodnotit, jestliže ve všech zkumavkách pozitivních kontrolních roztoků B a C je pozitivní výsledek a v obou zkumavkách negativního kontrolního roztoku D je negativní výsledek.

Zkoušený přípravek vyhovuje podmínkám zkoušky, jestliže v obou zkumavkách roztoku A je negativní výsledek.

Jestliže je v obou zkumavkách roztoku A výsledek pozitivní, pak:

- je-li zkoušený přípravek nařazen na hodnotu MVD, nevyhovuje zkoušce,
- je-li zkoušený přípravek nařazen na nižší hodnotu než je MVD, zkouška se opakuje s ředěním nepřesahujícím MVD.

Zkouška se opakuje, jestliže je v jedné ze zkumavek roztoku A zjištěn pozitivní výsledek a ve druhé zkumavce výsledek negativní. Zkoušený přípravek vyhovuje zkoušce, je-li při opakování v obou zkumavkách roztoku A negativní výsledek.

### 3. SEMIKVANTITATIVNÍ ZKOUŠKA (METODA B)

#### (i) Postup

Ve zkoušce se stanoví množství bakteriálních endotoxinů ve zkoušeném roztoku titrací do konečného bodu. Připraví se roztoky A, B, C a D podle tabulky 2.6.14-3 a zkouška se provede postupem uvedeným v části 1. Předběžné zkoušení

(i) Ověření deklarované citlivosti lyzátu.

Tab 2.6.14-3

Roztok	Koncentrace endotoxinu/roztok, ke kterému byl přidán endotoxin	Ředidlo	Ředicí faktor	Počáteční koncentrace endotoxinu	Počet zkumavek
A	bez endotoxinu/ zkoušený roztok	voda pro BET	1	-	2
			2	-	2
			4	-	2
			8	-	2
B	2λ/zkoušený roztok			2λ	2
C	2λ/voda pro BET	voda pro BET	1	2λ	2
			2	1λ	2
			4	0,5λ	2
			8	0,25λ	2
D	bez endotoxinu/voda pro BET	-	-	-	2

Roztok A - zkoušený roztok v ředění nepřevyšujícím MVD, se kterým byla provedena zkouška na interferující faktory. Další ředění zkoušeného roztoku nesmí přesáhnout MVD. Použije se voda pro BET a připraví se dvě řady ředění: 1, 1/2, 1/4 a 1/8 ve vztahu k ředění, se kterým byla provedena zkouška na interferující faktory. Je-li to vhodné, použijí se další ředění,

Roztok B - roztok A obsahující standardní endotoxin v koncentraci 2λ (pozitivní kontrola přípravku),

Roztok C - dvě řady zkumavek s vodou pro BET obsahující standardní endotoxin v koncentraci 2λ, 1λ, 0,5λ a 0,25λ,

Roztok D - voda pro BET (negativní kontrola).

#### (ii) Výpočet a hodnocení

Zkoušku lze hodnotit, jestliže jsou splněny následující tři podmínky:

- (a) obě zkumavky roztoku D (negativní kontrola) jsou negativní,
- (b) obě zkumavky roztoku B (pozitivní kontrola) jsou pozitivní,
- (c) geometrický průměr koncentrace roztoku C v konečném bodu je v rozmezí 0,5λ až 2λ.

Pro stanovení koncentrace endotoxinu v roztoku A se vypočítá koncentrace konečného bodu v každé řadě ředění vynásobením faktoru ředění každého konečného bodu citlivosti lyzátu (λ).

Koncentrace endotoxinu ve zkoušeném roztoku je geometrický průměr koncentrací konečného bodu ve zkumavkách (viz vyjádření uvedené v části 1 Předběžné zkoušení, (i) Ověření deklarované citlivosti lyzátu). Jestliže byl zkoušený roztok ředěn, vypočítá se koncentrace endotoxinu v původním roztoku vynásobením výsledku ředícím faktorem.

Nedává-li žádné ředění zkoušeného roztoku pozitivní výsledek a zkoušku lze hodnotit, označí se koncentrace endotoxinu jako nižší než λ (nebo byl-li zkoušen ředěný vzorek, jako λ × nejnižší ředicí faktor vzorku). Jsou-li všechna

ředění pozitivní, koncentrace endotoxinu se zaznamená jako rovná nebo vyšší než nejvyšší ředící faktor násobený  $\lambda$  (např. podle Tab. 2.6.14-3, počáteční ředící faktor  $\times 8 \times \lambda$ ).

Přípravek vyhovuje požadavkům zkoušky, jestliže koncentrace endotoxinu je nižší než koncentrace uvedená v jednotlivém článku.

## FOTOMETRICKÉ METODY (METODY C, D, E a F)

### 1. TURBIDIMETRICKÉ METODY (METODY C a F)

U těchto metod se fotometricky měří vzestup zákalu. Podle požitého principu se tyto metody označují jako turbidimetrická zkouška konečného bodu nebo turbidimetrická kinetická zkouška.

Turbidimetrická zkouška konečného bodu (Metoda F) je založena na kvantitativním poměru mezi koncentrací endotoxinu a zákalem (absorbance nebo transmitance) reakční směsi na konci inkubační doby.

Turbidimetrická kinetická zkouška (Metoda C) měří buďto čas (začátek času) potřebný k tomu, aby reakční směs dosáhla předem stanovené absorbance, nebo rychlost vývoje zákalu.

Zkouška se provádí při teplotě inkubace doporučené výrobcem lyzátu (obvykle  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ ).

### 2. CHROMOGENNÍ METODY (METODY D a E)

U těchto metod se měří chromofor uvolněný z vhodného chromogenního peptidu při reakci endotoxinů s lyzátem. Podle použitého principu se tyto metody označují jako chromogenní zkouška konečného bodu nebo chromogenní kinetická zkouška.

Chromogenní zkouška konečného bodu (Metoda E) je založena na kvantitativním poměru mezi koncentrací endotoxinu a množstvím uvolněného chromoforu v závěru inkubace.

Chromogenní kinetická zkouška (Metoda D) měří buďto čas (začátek času) potřebný k tomu, aby reakční směs dosáhla předem stanovené absorbance, nebo rychlost vývoje zbarvení.

Zkouška se provádí při teplotě inkubace doporučené výrobcem lyzátu (obvykle  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ ).

## 3. PŘEDBĚŽNÉ ZKOUŠENÍ

K zajištění přesnosti nebo platnosti turbidimetrických a chromogenních zkoušek se provádějí předběžná zkoušení, aby se zajistilo, že kritéria pro standardní křivku jsou vhodná a že zkoušený roztok ve zkoušce neinterferuje.

Validace zkoušky se požaduje, když byla učiněna jakákoliv změna experimentálních podmínek, která pravděpodobně ovlivní výsledek zkoušky.

### (i) Zajištění kritérií pro standardní křivku

K přípravě nejméně tří koncentrací pro standardní křivku se použije roztok standardního endotoxinu. Zkouška se provede nejméně ve třech zkumavkách každého ředění standardního endotoxinu tak, jak je doporučeno výrobcem lyzátu (poměry objemu, inkubační čas, teplota, pH atd.)

Jestliže je v kinetické metodě požadováno rozmezí vyšší než 2 log, musí se doplnit další standardy k podpoře logaritmického zvýšení v průběhu standardní křivky.

Absolutní hodnota korelačního koeficientu  $|r|$  musí být vyšší nebo rovna 0,980 pro rozmezí koncentrací endotoxinu uvedených výrobcem lyzátu.

### (ii) Zkouška na interferující faktory

Zvolí se koncentrace endotoxinu ve středu nebo v blízkosti střední hodnoty endotoxinové standardní křivky.

Připraví se roztoky A, B, C a D, jak je uvedeno v tabulce 2.6.14-4. Zkouška se provede nejméně na dvojici zkumavek těchto roztoků, které doporučuje výrobce lyzátu (objem zkoušeného roztoku a roztoku lyzátu, vzájemný poměr objemu zkoušeného roztoku a roztoku lyzátu, inkubační čas atd.).

Tab. 2.6.14-4

Roztok	Koncentrace endotoxinu	Roztok, k němuž se přidá endotoxin	Počet zkumavek
A	žádná	zkoušený roztok	nejméně 2
B	střední koncentrace standardní křivky	zkoušený roztok	nejméně 2
C	nejméně tři koncentrace (nejnižší koncentrace je označena $\lambda$ )	voda pro BET	každá koncentrace nejméně 2
D	žádná	voda pro BET	nejméně 2

Roztok A - zkoušený roztok ředěný nejvýše na MVD,

Roztok B - zkoušený přípravek ve stejném ředění jako roztok A obsahující endotoxin, jehož koncentrace se rovná nebo se blíží střední hodnotě standardní křivky,

Roztok C - roztok standardního endotoxinu v koncentraci, která byla použita při validaci metody postupem uvedeným v části 3. Předběžné zkoušení, (i) Zajištění kritérií pro standardní křivku (pozitivní kontroly),

Roztok D - voda pro BET (negativní kontrola).

Odečtením průměrné koncentrace endotoxinu (byla-li naměřena) v roztoku od koncentrace endotoxinu v roztoku, ke kterému byl endotoxin přidán se vypočítá průměrná hodnota záchytu přidaného endotoxinu.

Zkoušený roztok se považuje za prostý interferujícími faktory, jestliže v podmínkách zkoušky je naměřená koncentrace endotoxinu, přidaného ke zkoušenému roztoku, po odečtení jakéhokoli množství endotoxinu detegovaného v roztoku, ke kterému nebyl přidán endotoxin v rozmezí 50 % až 200 % koncentrace přidaného endotoxinu.

Je-li záchyt endotoxinu mimo stanovený rozsah, je nutno odstranit interferující faktory postupem popsáním v části Gelová metoda 1, Předběžné zkoušení, (ii) Zkouška na interferující faktory. Účinnost ošetření se ověří opakováním zkoušky na interferující faktory.

#### 4. ZKOUŠENÍ

##### (i) Postup

Postupuje se, jak je uvedeno v části 3. Předběžné zkoušení, (ii) Zkouška na interferující faktory.

##### (ii) Výpočet

Vypočítá se koncentrace endotoxinu pro každou zkumavku roztoku A pomocí standardní křivky připravené ze série pozitivních kontrol, roztok C.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže jsou splněny tři následující podmínky:

- výsledek v roztoku D (negativní kontrola) nepřesahuje limit slepého vzorku uvedený v popisu pro použitý lyzát,
- výsledky série pozitivních kontrol, roztok C, vyhovují požadavkům pro validaci uvedených v části 3 Předběžné zkoušení, (i) Zajištění kritérií pro standardní křivku (pozitivní kontroly),
- záchyt endotoxinu, vypočítaný z koncentrace endotoxinu nalezené v roztoku B po odečtení koncentrace endotoxinu nalezené v roztoku A, je v rozmezí 50 % až 200 %.

##### (iii) Hodnocení

Zkoušený přípravek vyhovuje, jestliže průměrná koncentrace endotoxinu ve zkumavkách roztoku A po opravě naředění a koncentrace je nižší než limit endotoxinu pro přípravek.

#### 5. ZKOUMADLA

##### (i) Roztok lyzátu

Lyzát z amebocytů se rozpustí ve vodě pro BET nebo v tlumivém roztoku podle doporučení výrobce lyzátu opatrným mícháním. Rekonstituovaný lyzát se uchovává v lednici nebo zmražený podle návodu výrobce.

##### (ii) Amebocytový lyzát

Lyzát z amebocytů je lyofilizovaný přípravek, který se získává z lyzátu amebocytů ostrorepů (*Limulus polyphemus* nebo *Tachypleus tridentatus*). Toto zkoumadlo se vztahuje pouze na přípravky vyrobené v souladu s nařízeními odpovědné autority.

Lyzát z amebocytů reaguje po přidání endotoxinu s některými  $\beta$ -glukany. Dostupné jsou též lyzáty, které nereagují s glukany; jsou připraveny odstraněním G faktoru reagujícího s glukany nebo inhibicí amebocytového systému, který reaguje s faktorem G. Tyto přípravky se mohou použít ve zkoušce na endotoxin v přítomnosti glukanu.

(iii) *Voda pro BET (voda pro zkoušku na bakteriální endotoxiny)*

Voda pro BET je voda pro injekce R nebo voda připravená jinými postupy, která nedává reakci s lyzátem použitým k detekci limitu zkoumadla.

*Následující část je uvedena pro informaci a jen jako návod; netvoří závaznou část obecných metod.*

## Zkouška na bakteriální endotoxiny: pokyny

### 1. Úvod

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

Přítomnost endotoxinů v přípravku může být zakryta faktory interferujícími s reakcí mezi amebocytárním lyzátem a endotoxiny. Proto analytik, chce-li nahradit zkoušku na pyrogenní látky na králících, která je požadována lékopisným článkem, zkouškou na endotoxiny, musí prokázat, že dotyčný přípravek lze zkoušet validovaným způsobem; to může obsahovat postup na odstranění interferujících faktorů.

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

- 1.1 Prokáže se vhodnost materiálů ke zkoušce. Musí se zajistit nepřítomnost endotoxinu ve vodě pro BET a v ostatních zkoumadlech a musí kontrolovat citlivost lyzátu, aby se potvrdila citlivost deklarovaná výrobcem.
- 1.2 Protože zkoušený přípravek může ve zkoušce interferovat, přezkouší se citlivost lyzátu v nepřítomnosti i v přítomnosti zkoušeného přípravku. Mezi oběma hodnotami citlivosti se nezjistí signifikantní rozdíl.

Zkouška na bakteriální endotoxiny (2.6.14) vyjmenovává metody na odstranění interferujících faktorů; v případě interference se po použití takové metody provede jiná zkouška, aby se ověřilo, zda se interference neutralizovala nebo odstranila.

V tomto dodatku jsou vysvětleny důvody pro požadavky obsažené ve zkoušce na bakteriální endotoxiny, dále je pojednáno o odečítání a interpretaci výsledků.

Nahrazení zkoušky na pyrogenní látky na králících v lékopisném článku zkouškou s lyzátem z amebocytů je v podstatě použitím alternativní analytické metody, a proto vyžaduje validaci. Některé pokyny k jejímu provedení jsou uvedeny v části 11.

V článku příslušného přípravku je uvedena referenční metoda na stanovení endotoxinů, není-li tato metoda uvedena, použije se metoda A. Je-li použita jiná než referenční metoda, musí laboratorní pracovník prokázat, že je tato metoda vhodná pro daný přípravek a jsou jí dosaženy konzistentní výsledky jako s metodou referenční (viz též část 13).

### 2. Metoda

Přidání endotoxinů k lyzátu z amebocytů může skončit vznikem zákalu, sraženiny nebo gelu; pouze vznik gelu byl v lékopise použit jako rozhodující kritérium u prvního typu zkoušky na bakteriální endotoxiny. Výhodou byla jednoduchost založená na rozhodnutí, zda přípravek vyhovuje nebo nevyhovuje na základě prostým okem patrné přítomnosti nebo nepřítomnosti gelu. Kvantitativní metody uvedené jako metody C, D, E a F byly vyvinuty později: vyžadují více přístrojového vybavení, ale dají se snadněji automatizovat pro správné zkoušení velkého počtu vzorků jednoho přípravku.

Endotoxiny se mohou adsorbovat na povrch zkumavek nebo pipet z určitých plastů nebo typů skla. Uvolnění látek z plastických materiálů může vyvolat interferenci. Proto se mají používané materiály kontrolovat; složení následujících šarží zku-

mavek nebo pipet se mohou mírně lišit, a proto se doporučuje, aby laboratorní pracovník opakoval takové zkoušky před použitím nové šarže materiálů.

Rozhodnutí použít zkoušku na bakteriální endotoxiny jako limitní zkoušku je dáno tím, že za prvé musí být definována prahová koncentrace endotoxinu pro zkoušený přípravek a za druhé, že cílem zkoušky je znát, zda-li je koncentrace endotoxinu v přípravku pod nebo nad hranici této prahové hodnoty. Kvantitativními metodami C, D, E a F je možné stanovit koncentraci endotoxinu ve zkoušeném vzorku, ale pro soulad s lékopisem a v rutinní kontrole jakosti je konečná otázka, zda tato koncentrace je nebo není vyšší než požadovaný limit.

Při stanovování prahové koncentrace endotoxinu u zkoušeného přípravku je nutno brát zřetel na dávku přípravku: práh má být určen tak, aby zajistil pokud je koncentrace endotoxinu v přípravku pod prahovou hodnotou, že ani nejvyšší dávka podaná zamýšleným způsobem za hodinu neobsahuje dostatek endotoxinu k vyvolání toxické reakce.

Jestliže je koncentrace endotoxinu v přípravku přesně rovna prahové hodnotě, vznikne gel, jako v případě, kdy je koncentrace endotoxinu mnohem vyšší a přípravek nevyhoví zkoušce, protože nelze rozlišit mezi koncentrací přesně se rovnající prahové koncentraci a mezi koncentrací vyšší. Pouze v případě, kdy nevznikne gel, může analytik rozhodnout, že koncentrace endotoxinu je pod prahovou koncentrací.

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

*Limitní koncentrace endotoxinu:* limitní koncentrace endotoxinu pro účinnou látku podávanou parenterálně se definuje na základě dávky a vypočítá se podle vzorce:

$$\frac{K}{M},$$

v němž značí:

*K* - prahovou pyrogenní dávku endotoxinu na kilogram tělesné hmotnosti za hodinu,

*M* - nejvyšší doporučenou dávku přípravku na kilogram tělesné hmotnosti za hodinu.

Limitní koncentrace endotoxinu závisí na druhu přípravku a jeho způsobu podání a je uvedena v jednotlivých člácích. Hodnoty *K* jsou uvedeny v tabulce 2.6.14-5.

**Tab. 2.6.14-5**

Způsob podání	<i>K</i> (v mezinárodních jednotkách endotoxinu na kilogram tělesné hmotnosti za hodinu)
intravenózní	5,0
intravenózní pro radiofarmaka	2,5
intrathekální	0,2

Které ředění přípravku se má použít ve zkoušce, aby byla naprostá jistota, že negativní výsledek zkoušky znamená, že koncentrace endotoxinu v přípravku je nižší než limitní koncentrace endotoxinu a že pozitivní výsledek znamená, že lyzát detegoval koncentraci endotoxinu rovnou nebo vyšší, než je limitní koncentrace endotoxinu? Toto ředění závisí na limitní koncentraci endotoxinu a na citlivosti lyzátu: označuje se jako nejvyšší účinné ředění (MVD) a tato hodnota se může vypočítat ze vzorce:

$$\text{MVD} = \frac{\text{limitní koncentrace endotoxinu} \times \text{koncentrace zkoušeného roztoku}}{\lambda}$$

*Koncentrace zkoušeného roztoku:*

- v mg/ml, jestliže limitní koncentrace endotoxinu je stanovena na hmotnost (m.j./mg),

- v mj./ml, jestliže limitní koncentrace endotoxinu je stanovena na jednotku biologické účinnosti (m.j./j.),

- v ml/ml, jestliže limitní koncentrace endotoxinu je stanovena na objem (m.j./ml).

$\lambda$  je deklarovaná citlivost lyzátu naměřená gelovou metodou (m.j./ml) nebo nejnižší koncentrace endotoxinu použitá při přípravě standardní křivky turbidimetrickou nebo chromogenní metodou.

Jestliže hodnota nejvyššího účinného ředění není celým číslem, pak je možno pro rutinní účel zvolit odpovídající celé číslo nižší než je MVD (čímž je míněno připravit roztok přípravku, který je méně zředěn, než uvádí MVD). V tomto případě negativní výsledek zkoušky ukazuje, že koncentrace endotoxinu v přípravku se nachází pod hladinou limitní hodnoty. Je-li však koncentrace endotoxinu v přípravku v takovéto zkoušce nižší než ELC, ale dostatečně vyso-

ká k tomu, aby při reakci s lyzátem došlo k tvorbě gelu, může být zkouška hodnocena za těchto podmínek jako pozitivní. Tudíž, je-li zkouška s tímto „vhodným“ ředícím faktorem pozitivní, je nutno přípravek ředit na MVD a zkoušku opakovat. V jakémkoli případě pochybností nebo sporu se použije MVD.

To zdůrazňuje důležitost ověření citlivosti lyzátu.

### Příklad

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

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

$c$  - 50 mg/ml,

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

$\lambda$  - 0,4 m.j. endotoxinu v mililitru.

Řešení:

$$MVD = \frac{5 \cdot 50}{15} \cdot \frac{1}{0,4} = 41,67$$

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

### 3. Referenční materiál

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

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

*Poznámka: Jedna mezinárodní jednotka (m.j.) endotoxinu je rovna jedné endotoxinové jednotce (e.j.).*

### 4. Voda pro BET

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

4.1 Zkouška na králíku není dostatečně citlivá, aby mohla detegovat endotoxin ve vodě pro BET, určené ke zkoušení přípravků s velice nízkou limitní koncentrací endotoxinu.

4.2 Relativně nízká přesnost teplotní odpovědi u králíka vede k opakování na mnoha králících.

4.3 Termíny „pyrogenní látky“ a „endotoxiny“ označují skupiny látek, které nejsou zcela totožné.

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

### 5. Hodnota pH směsi

Ve zkoušce na bakteriální endotoxiny je nevhodnější pH 6,0 až 8,0. Po přidání lyzátu ke vzorku může však dojít k poklesu pH.

### 6. Validace lyzátu

Při přípravě roztoku lyzátu je důležité se řídit návodem výrobce.

Poslední pozitivní ředění u gelové metody A a B se převedou na logaritmy. Důvodem toho je grafické znázornění rozložení četnosti těchto logaritmických hodnot, které dává obvykle normální distribuční křivku mnohem vyrovnanější

než je distribuční rozložení ředicích faktorů jako takových; v podstatě jde o tak podobné hodnoty, že je přijatelné použít normální frekvenční distribuci jako matematický model a stanovit interval spolehlivosti Studentovým *t*-testem.

## 7. Předběžná zkouška na interferující faktory

Některé přípravky nelze přímo zkoušet na přítomnost endotoxinu, protože je nelze smíchat se zkoumadly, nelze u nich upravit hodnotu pH v rozmezí 6,0 až 8,0 nebo inhibují nebo aktivují tvorbu gelu. Proto je nutno provést předběžnou zkoušku na zjištění přítomnosti interferujících faktorů: jsou-li nalezeny, pak analytik prokáže, že postup použitý k jejich odstranění byl dostatečně účinný.

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

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

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

## 8. Odstranění interferujících faktorů

Postupy k odstranění interference nemají ani zvyšovat, ani snižovat množství endotoxinu ve zkoušeném přípravku (např. adsorbci). Správný způsob, jak toto ověřit, je, že se do zkoušky zařadí vzorek přípravku, ke kterému se přidá známé množství endotoxinu a poté se měří zpětně koncentrace endotoxinu.

*Metody C a D.* Jestliže zkoušený přípravek vykazuje interferenci, kterou nelze odstranit klasickými metodami, je možné provést standardní křivku se stejným typem přípravku zbaveným endotoxinů vhodným způsobem, nebo ředěním přípravku. Zkouška na endotoxinu se provede porovnáním s touto standardní křivkou.

Zjistilo se, že ve většině případů je vhodná účinná ultrafiltrace na asymetrických membránových filtrech z triacetatcelulosity. Filtry mají být patřičně validovány, protože v některých případech mohou deriváty celulosity ( $\beta$ -D-glykany) způsobovat falešně pozitivní výsledky.

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

## 9. Poslání kontrol

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

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

## 10. Hodnocení a interpretace výsledků

Nepatrné množství endotoxinu ve vodě pro BET nebo v některém jiném zkoumadle nebo materiálu, jemuž je vystaven lyzát při zkoušce, nemusí být zjištěno, pokud nedosáhne limitu citlivosti lyzátu. Může však zvyšovat množství endotoxinu v roztoku se zkoušeným přípravkem právě na hranici hodnoty citlivosti lyzátu a způsobit pozitivní reakci.

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

## 11. Náhrada zkoušky na pyrogenní látky na králících zkouškou na endotoxiny

V člancích na přípravky pro parenterální použití, které mohou obsahovat toxická množství bakteriálních endotoxinů, se požaduje buď zkouška na pyrogenní látky na králících, nebo zkouška na bakteriální endotoxiny. Obecně platné je:

- 11.1 V každém jednotlivém článku, je-li požadována zkouška, je uvedena pouze jedna, buď na pyrogenní látky, nebo na endotoxiny.
  - 11.2 Naopak, v případě nejistoty je upřednostněna zkouška na bakteriální endotoxiny, neboť zajišťuje stejnou nebo lepší ochranu pacienta.
  - 11.3 Předtím, než se do článku zařadí zkouška na bakteriální endotoxiny, požaduje se důkaz, že jedna ze zkoušek popsaných v kapitole 2.6.14 se může uspokojivě použít u zkoušeného přípravku.
  - 11.4 Nezbytné informace jsou požadovány od výrobců. Ti jsou vyzváni, aby předložili všechny údaje o validacích, které mají k dispozici a které se týkají využití zkoušky na bakteriální endotoxiny u látek a daných složení. Tyto údaje zahrnují přípravu vzorku a všechny postupy k odstranění interferujících faktorů. K tomu ještě musí být k dispozici všechny podobné výsledky ze zkoušky na pyrogenní látky na králících, které mohou přispět k jistotě, že náhrada zkoušky na pyrogenní látky zkouškou na endotoxiny je vhodná.
- Doplňující požadavky jsou definovány v následujících částech.

## 12. Použití jiné zkoušky na bakteriální endotoxiny než zkoušky předepsané v článku

Jestliže je v článku předepsána zkouška na bakteriální endotoxiny a není specifikována žádná ze šesti metod (A až F) popsaných v kapitole (2.6.14), byla pro přípravek validována metoda A, gelová-limitní zkouška. Je-li specifikovaná jedna z ostatních metod (B až F), je to ta, která byla pro tento přípravek validována.

## 13. Validace alternativních metod

Náhrada zkoušky na pyrogenní látky na králících zkouškou na bakteriální endotoxiny nebo náhrada již předepsané nebo vyplývající metody na bakteriální endotoxiny jinou metodou se považuje za použití alternativní metody místo lékopisné zkoušky, jak je uvedeno v Obecných zásadách:

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

Pro validaci metod na bakteriální endotoxiny jiných než obsažených nebo uvedených v článku, jsou navrženy následující postupy.

- 13.1 Postupy, materiály a zkoumadla použité ve zkoušce se mají validovat, jak je příslušnou zkouškou popsáno.
- 13.2 Přítomnost interferujících faktorů (a v případě nutnosti postup pro jejich odstranění) se má zkoušet na vzorcích z nejméně tří výrobních šarží. Je nutno pamatovat na to, že u metody D a E, které používají chromogenní peptid, jsou nutná zkoumadla, která nejsou třeba u metod A, B, C a F a proto vyhovující výsledek naměřený metodou A, B, C nebo F nelze vztáhnout na metodu D nebo E bez dalšího zkoušení.

## 14. Validace zkoušky pro nové přípravky

Postupy uvedené v částech 13.1 a 13.2 se použijí u všech nových přípravků pro parenterální podání, které se mají zkoušet na přítomnost bakteriálních endotoxinů podle požadavků lékopisu.



8. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.6 Biologické zkoušky, kapitola 2.6.21 zní:

”

## 2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin



### 1 Úvod

Techniky amplifikace nukleových kyselin jsou založeny na dvou rozdílných přístupech:

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

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

### 2 Rozsah působnosti

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

### 3 Princip metody

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

Po denuraci dvouřetězcové DNK na jednořetězcovou DNK se dva syntetické oligonukleotidové primery opačné polarity přihybridizují k odpovídajícím komplementárním sekvencím DNK, která má být amplifikována. Krátké dvouřetězcové úseky, které jsou výsledkem specifického párování mezi primery a komplementární sekvencí DNK, ohraničují segment DNK, který bude amplifikován a slouží jako výchozí body pro syntézu DNK *in vitro* pomocí tepelně stabilní DNK polymerasy.

Amplifikace DNK probíhá v cyklech, které tvoří:

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

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

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

### 4 Zkoušený materiál

Z důvodu vysoké citlivosti metody PCR je nutno vzorky optimálně chránit před vnější kontaminací cílovými sekvencemi. Vzorkování, uchovávání a doprava zkoušeného materiálu se provádějí za podmínek minimalizujících degradaci cílové sekvence. Pro cílové sekvence RNK je třeba zvláštní opatrnost, neboť RNK je vysoce citlivá na degradaci ribonukleasami. Je třeba věnovat pozornost i tomu, že některá přidávaná zkoumadla, jako jsou antikoagulantia nebo konzervační látky, mohou interferovat v postupu zkoušky.

## 5 Zkušební metoda

### 5.1 Zamezení kontaminace

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

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

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

### 5.2 Příprava vzorku

Při přípravě vzorku se cílová sekvence pro amplifikaci extrahuje nebo uvolňuje ze zkoušeného materiálu účinným a reprodukovatelným způsobem tak, aby bylo možné provést amplifikaci za zvolených reakčních podmínek. Mohou se použít různé způsoby fyzikálně-chemické extrakce a/nebo obohacovací metody. Přísady přítomné ve zkoušeném materiálu mohou interferovat s PCR. Pro kontrolu nepřítomnosti inhibitorů pocházejících ze zkoušeného materiálu se použijí postupy uvedené v odstavci 7.3.2.

V případě matric RNK je třeba zabránit působení ribonukleasy.

### 5.3 Amplifikace

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

Tyto podmínky závisejí na různých parametrech, jako jsou:

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

### 5.4 Detekce

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

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

## 6 Hodnocení a interpretace výsledků

Výsledky jsou platné pouze tehdy, jsou-li pozitivní kontroly jednoznačně pozitivní a negativní kontroly jednoznačně negativní. Vysoká citlivost metody PCR a potenciální riziko kontaminace vyžaduje potvrdit pozitivní výsledky dvojitým opakováním celého zkušební postupu, pokud možno s novým množstvím vzorku. Vzorek se považuje za pozitivní, jestliže alespoň jedna z opakovaných zkoušek je pozitivní.

## 7 Jištění jakosti

### 7.1 Validace systému zkoušky PCR

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

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

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

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

## 7.2 Kontrola jakosti zkoumadel

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

Primery jsou klíčovou složkou zkoušky PCR a je nutné věnovat pečlivou pozornost jejich složení, čistotě a validaci jejich použití ve zkoušce PCR. Každá nová šarže primeru se před přijetím zkouší na specifitu, amplifikační účinnost a inhibiční nečistoty. Primery mohou být modifikovány (např. konjugací s fluoroforem nebo antigenem), aby umožnily použití specifické metody detekce amplikonu, a to za předpokladu, že tyto modifikace neinhibují přesnost a účinnost amplifikace cílové sekvence.

## 7.3 Průběžná kontrola

### 7.3.1 Vnější kontroly

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

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

### 7.3.2 Vnitřní kontroly

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

## 7.4 Vnější hodnocení jakosti

Účast v programech vnějšího hodnocení jakosti je důležitým postupem jistění jakosti PCR pro každou laboratoř a každého pracovníka.

*Následující část je uvedena pro informaci a pouze jako pokyn: není to závazná část lékopisu.*

## Validace amplifikace nukleových kyselin (NAT) pro detekci RNK viru hepatitidy C (HCV) v plazmatických směsích: směrnice

### 1 Úvod

Většinu analytických postupů amplifikace nukleových kyselin tvoří kvalitativní zkoušky na přítomnost nukleových kyselin s některými kvantitativními zkouškami (buďto domácími, nebo komerčními), jež jsou dostupné. Pro detekci kontaminace RNK HCV v plazmatických směsích postačují kvalitativní zkoušky a mohou být považovány za limitní zkoušku pro kontrolu nečistot, jak je popsáno v Technických pokynech pro vypracování článků (*Pharmeuropa*, prosinec 1999), Kapitola III, „Validace analytických postupů“. Tyto pokyny popisují pouze metody k validaci kvalitativních analytických postupů amplifikace nukleových kyselin pro stanovení kontaminace RNK HCV v plazmatických směsích. Proto jsou za nejzávažnější pro validaci analytické metody považovány specifita a detekční limit. Jako další může být hodnocena robustnost metody.

Nicméně se tento dokument může použít jako obecný základ pro validaci amplifikace nukleových kyselin.

Pro účel tohoto dokumentu se analytický postup definuje jako úplný postup od extrakce kyseliny nukleové po detekci amplifikovaných produktů.

Při použití komerčních souprav pro část postupu, nebo úplný analytický postup mohou výrobcem kitu dokumentované validační body nahradit validaci uživatelem. Působení soupravy ve vztahu k zamýšlenému užití by mělo být dokázáno uživatelem (např. detekční limit, robustnost, křížová kontaminace).

## 2 Specificita

Specificita je schopnost jednoznačně stanovit nukleovou kyselinu v přítomnosti složek, jejichž přítomnost je předvídatelná.

Specificita analytického postupu amplifikace nukleových kyselin je závislá na výběru primerů, výběru vzorků (pro analýzu finálního produktu) a přísnosti zkušebních podmínek (pro amplifikační i detekční kroky).

Při navrhování primerů a vzorků se ověřuje jejich specificita k detekci pouze RNK HCV srovnáním vybraných sekvencí se sekvencemi v publikovaných databankách. Pro HCV se budou primery (a vzorky) obvykle vybírat z oblasti 5' nekódující části HCV genomu, která je vysoce konzervativní pro všechny genotypy.

Amplifikovaný produkt by měl být jednoznačně určen použitím jedné z následujících metod, jako je amplifikace vlastními primery, restriktivní enzymovou analýzou, sekvencováním nebo hybridizací se specifickým vzorkem. K validaci specificity analytických postupů se s výsledkem negativním zkouší nejméně 100 směsí plazmy HCV RNK negativních. Vhodné vzorky nereaktivních směsí jsou dostupné z Evropského ředitelství pro jakost léčiv (EDQM).

Schopnost analytických postupů k detekci všech HCV genotypů závisí opět na výběru primerů, vzorků a parametrech metody. Tato schopnost by se měla prokázat použitím charakterizovaných referenčních panelů. Vzorky některých genotypů (např. genotypu 6) je obtížné získat, nejvíce převládající genotypy (např. v Evropě 1 a 3) by měly být detegovány na příslušné úrovni.

## 3 Detekční limit

Detekční limit jednotlivého analytického postupu je nejnižší množství kyseliny nukleové ve vzorku, které může být detegováno, ale není nutné je kvantifikovat jako přesnou hodnotu.

Analytický postup amplifikace kyseliny nukleové použitý pro detekci RNK HCV v plazmatických směsích obvykle dává kvalitativní výsledky. Počet možných výsledků je omezen na dva, buďto pozitivní, nebo negativní. Přestože je doporučeno stanovit detekční limit, měla by se pro praktické účely analytického postupu amplifikace nukleových kyselin stanovit pozitivní limitní hodnota. Pozitivní limitní hodnota (jak je definována v obecné stati (2.6.21) je minimální počet cílových sekvencí na objem vzorku, který může být detegován v 95 % zkušebních sérií. Pozitivní limitní hodnota je ovlivňována distribucí virových genomů v jednotlivých zkoušených vzorcích a také faktory, jako je enzymová účinnost, které mohou způsobit rozdíly pozitivních limitních hodnot v 95 % jednotlivých sérií analytických zkoušek.

K určení pozitivní limitní hodnoty se používají ředící série pracovních zkoumadel nebo *viru hepatitidy C BRP*, který je kalibrován proti mezinárodnímu standardu WHO HCV 96/790 a zkouší se v různých dnech, aby se vyzkoušely rozdíly mezi zkušebními sériemi. Zkouší se nejméně tři nezávislé ředící série s dostatečným počtem replik v každém ředění, aby se pro každé ředění získalo 24 výsledků způsobilych ke statistickému hodnocení výsledků.

Laboratoř může např. zkoušet tři ředící série v různých dnech v osmi replikách pro každé ředění, čtyři ředící série v různých dnech se šesti replikami pro každé ředění, nebo šest ředících sérií v různých dnech ve čtyřech replikách pro každé ředění. K udržení počtu ředění na zvládnutelné úrovni lze provést předběžnou zkoušku (např. s použitím logaritmického ředění vzorku plazmatické směsi) k získání předběžného výsledku pro pozitivní limitní hodnotu (tj. nejvyšší ředění dávající pozitivní signál). Řada ředění může být vybrána kolem předurčené limitní hodnoty (např. s použitím ředícího faktoru 0,5 log nebo méně a negativní plazmatické směsi pro ředící matici). Koncentrace RNK HCV, která byla detegována v 95 % zkušebních sérií, se může vypočítat vhodným statistickým vyhodnocením.

Tyto výsledky mohou sloužit rovněž k důkazu odchylek uvnitř zkoušky a mezidenních odchylek analytického postupu.

## 4 Robustnost

Robustnost analytického postupu je míra jeho kapacity zůstat nedotčen malými, ale záměrnými odchylkami v parametrech metody a poskytuje údaje o jeho spolehlivosti při běžném použití.

Ohodnocení robustnosti se zvažuje ve vývojové fázi. Mělo by ukázat spolehlivost analytického postupu s ohledem na záměrné odchylky v parametrech metody. Pro metody amplifikace nukleových kyselin mohou být malé odchylky v parametrech metody rozhodující. Robustnost metody se může dokázat při jejím vývoji, kdy se zkouší malé odchylky v koncentraci zkoumadel (např. chloridu hořečnatého, primerů nebo dNTP). K důkazu robustnosti se použije nejméně dvacet plazmatických směsí negativních RNK HCV (náhodně vybraných), záměrně kontaminovaných RNK HCV

do konečné koncentrace trojnásobku dříve stanovených 95 % pozitivních limitních hodnot. Výsledek zkoušky by měl být pozitivní.

Problémy s robustností mohou také vzniknout u metod, které užívají úvodní ultracentrifugaci před extrakcí virové RNK. Proto se k průkazu robustnosti takových metod zkouší nejméně dvacet plazmatických směsí, obsahujících různá množství RNK HCV, ale bez HCV specifických protilátek, a výsledek by měl být pozitivní.

Prevence křížové kontaminace se prokáže přesnou detekcí panelu o nejméně dvaceti vzorcích, sestávajícího střídavě ze vzorků obsahujících negativní plazmatické směsi a negativní plazmatické směsi záměrně kontaminované vysokými koncentracemi HCV (nejméně stonásobek 95% pozitivní limitní hodnoty nebo nejméně  $10^4$  m.j./ml).

## 5 Jištění jakosti

U biologické zkoušky jako je amplifikace nukleových kyselin, mohou vzniknout specifické problémy, které mohou ovlivnit validaci a interpretaci výsledků. Zkušební metody se přesně popíší formou standardních operačních postupů, které by měly obsahovat:

- způsob vzorkování (typ obalu, atd.);
- přípravu mini-směsí (kde je to vhodné);
- podmínky uchovávání před analýzou;
- přesný popis zkušebních podmínek, včetně opatření, jak zabránit křížové kontaminaci nebo destrukci virové RNK, použitých zkoumadel a referenčních přípravků;
- přesný popis použitého přístroje;
- detailní vzorce pro výpočet výsledků, včetně statistického hodnocení.

Použití vhodné kontroly ve zkušební sérii (např. vhodné ředění viru *hepatitidy C BRP* nebo plazmy záměrně kontaminované vzorkem HCV kalibrovaným proti mezinárodnímu standardu WHO HCV 96/790) se považuje za uspokojivý systém vhodnosti kontroly a zajišťuje, že spolehlivost analytického postupu je zaručena, ať se provádí kdykoli.

Technická kvalifikace: je potřeba, aby pro každou podstatnou část použitého zařízení byla provedena vhodná instalace a existoval program provozní způsobilosti. Konfirmace provedení analytického postupu po změně kritického zařízení (např. termocykleru) se dokumentuje provedením paralelní zkoušky s osmi replikami vzorků plazmatických směsí záměrně kontaminovaných RNK HCV do konečné koncentrace trojnásobku dříve stanovených 95% limitních hodnot. Všechny výsledky jsou pozitivní.

Kvalifikace operátora: vypracuje se vhodný program kvalifikace pro každého operátora, který provádí zkoušení. Pro potvrzení úspěšného výcviku každý operátor přezkouší nejméně osm replik vzorků plazmatických směsí záměrně kontaminovaných RNK HCV, do konečné koncentrace trojnásobku dříve stanovených 95% limitních hodnot. Tato zkouška (osm replik vzorků) se opakuje dvakrát ve dvou různých dnech, tj. celkově se ve třech různých dnech provede 24 zkoušek. Všechny výsledky jsou pozitivní.

“

9. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.7 Metody stanovení účinnosti, se za kapitolu 2.7.12 doplňují kapitoly 2.7.13 až 2.7.15, které znějí:

”

### 2.7.13 Stanovení účinnosti lidského imunoglobulinu anti-D



2001

Účinnost se stanoví porovnáním množství, které je zapotřebí k aglutinaci D-pozitivních červených krvinek, s množstvím referenčního přípravku kalibrovaného v mezinárodních jednotkách, které je zapotřebí k dosažení stejného účinku.

Mezinárodní jednotka je účinnost obsažená v deklarovaném množství mezinárodního referenčního přípravku. Hodnotu účinnosti mezinárodního referenčního přípravku v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

Použije se směs D-pozitivních červených krvinek, ne starších než 7 dní, vhodně uchovávaných a získaných od nejméně čtyř dárců krve s krevní skupinou O<sub>1</sub>R<sub>1</sub>. Ke vhodnému objemu krvinek třikrát propraných roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) se přidá stejný objem *bromelinu RS*, nechá se 10 min stát při 37 °C, odstředí se, supernatantní tekutina se odstraní a krvinky se třikrát promyjí roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l). 20 objemových dílů červených krvinek se suspenduje ve směsi 15 objemových dílů inertního séra, 20 objemových dílů roztoku *albuminu hovězího R* (300 g/l) a 45 objemových dílů roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l). Vzniklá suspenze se vloží do vody s ledem a stále se promíchává.

Použitím automatického kalibrovaného dilutoru se připraví vhodná ředění zkoušeného a referenčního přípravku. K ředění se použije roztok *albuminu hovězího R* (5 g/l) v roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l).

Použije se vhodný přístroj pro automatickou kontinuální analýzu: teplota trubice, kromě inkubačních spirál, se udržuje na 15 °C. Do trubice přístroje se vpraví suspenze červených krvinek rychlostí 0,1 ml/min a roztok *methylcelulose 450 R* (3 g/l) rychlostí 0,05 ml/min. Ředění zkoušeného a referenčního přípravku se provádějí rychlostí 0,1 ml/min po dobu 2 min a po každém z nich se provede opláchnutí ředicím roztokem rychlostí 0,1 ml/min po dobu 4 min před zavedením dalšího ředění.

Vzduch se přivádí rychlostí 0,6 ml/min. Inkubuje se 18 min při 37 °C a pak se shluk rozptýlí přivedením roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l), obsahujícího vhodné smáčedlo (např. *polysorbát 20 R* v konečné koncentraci 0,2 g/l, rychlostí 1,6 ml/min, aby se zabránilo porušení bublinové struktury. Aglutináty se nechají sedimentovat a dvakrát se promyjí, nejprve při 0,4 ml/min a poté 0,6 ml/min. Neaglutinované červené krvinky se lyzují roztokem, který obsahuje *oktinoxinol 10 R* (5 g/l), *hexakvanoželezitan draselný R* (0,2 g/l), *hydrogenuhlčitan sodný R* (1 g/l) a *kyanid draselný R* (0,05 g/l), přiváděným rychlostí 2,5 ml/min. Ke konverzi hemoglobinu se zavede desetiminutová prodlévací spirála. Průběžně se zaznamenává absorbance (2.2.25) hemolýzátu při vlnové délce 540 nm až 550 nm. Stanoví se rozmezí koncentrací protilátky, v němž je mezi koncentrací a výslednou změnou absorbance ( $\Delta A$ ) lineární závislost. Z výsledků se sestrojí standardní křivka a její lineární část se použije ke stanovení účinnosti zkoušeného přípravku.

Účinnost zkoušeného přípravku se v mezinárodních jednotkách na mililitr vypočítá ze vzorce:

$$\frac{a \cdot d}{D},$$

v němž značí:

*a* - účinnost ředění *D* referenčního přípravku v mezinárodních jednotkách na mililitr,

*d* - faktor ředění zkoušeného přípravku, u kterého se zjistila daná hodnota  $\Delta A$ ,

*D* - faktor ředění referenčního přípravku, u kterého se zjistila stejná hodnota  $\Delta A$ .

#### 2.7.14 Stanovení účinnosti vakcíny proti hepatitidě A



2001

Stanovení účinnosti vakcíny proti hepatitidě A se provádí buď *in vivo* porovnáním schopnosti přípravku vyvolat v daných podmínkách u myši nebo morčat tvorbu specifických protilátek se stejnou schopností referenčního přípravku, nebo *in vitro* imunochemickým stanovením obsahu antigenu.

#### Zkouška *in vivo*

Vhodná je např. níže uvedená zkouška na myších, ale lze použít i jiné validované metody.

*Výběr a rozdělení pokusných zvířat.* Použijí se zdravé myši z jednoho chovu, staré asi 5 týdnů a z prokazatelně vhodného kmene. Používají se zvířata stejného pohlaví. Rozdělí se do nejméně sedmi stejných skupin o počtu vhodném pro požadavky stanovení.

*Stanovení účinnosti zkoušeného přípravku.* K ředění přípravku se použije roztok *chloridu sodného R* (9 g/l), obsahující hliníkové adjuvans použité ve vakcíně. Připraví se nejméně tři ředění zkoušeného přípravku a odpovídající ředění referenčního přípravku. Každému zvířeti ve skupině se subkutánně vstříkne nejvýše 1,0 ml ředění určeného pro skupinu. Jedna skupina zvířat zůstane neočkována, vstříkne se jí pouze subkutánně stejný objem ředicího roztoku. Po 28 až 38

dnech se zvířata v anestezii vykrvácejí a odděleně se získají jednotlivá séra. V těchto sérech se vhodnou imunochemickou metodou stanoví obsahy specifických protilátek proti hepatitidě A (2.7.1).

*Výpočty.* Výpočty se provedou běžnými statistickými metodami pro zkoušky s kvantitativní odpovědí (5.3).

Z rozložení reakčních hodnot naměřených ve všech sérech neočkované skupiny se stanoví nejvyšší reakční hladina, kterou lze nalézt při této zvláštní zkoušce u nevakcinovaných zvířat. Všechny odpovědi u vakcinovaných zvířat, které převyšují tuto hodnotu, se označí za sérokonverzi.

Procento zvířat vykazujících sérokonverzi v každé skupině se vhodně transformuje (např. probitovou transformací) a použije se model rovnoběžnosti křivek závislosti log dávky a odpovědi. Účinnost zkoušeného přípravku se stanoví ve vztahu k referenčnímu přípravku.

*Validační podmínky.* Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- pro zkoušený a referenční přípravek leží  $ED_{50}$  mezi nejnižší a nejvyšší dávkou podanou zvířatům,
- statistická analýza neukazuje žádnou významnou odchylku od linearity ani rovnoběžnosti,
- meze spolehlivosti relativní účinnosti jsou 33 % až 300 % stanovené účinnosti.

*Požadavek na účinnost.* Horní mez spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) stanovené relativní účinnosti je nejméně 1,0.

### Zkouška *in vitro*

Provede se imunochemické stanovení (2.7.1) obsahu antigenu, které vyhovuje kritériím validovaným při zkoušce *in vivo*.

Kritéria přijatelnosti pro daný referenční přípravek schvaluje na základě validačních údajů oprávněná autorita.

### 2.7.15 Stanovení účinnosti vakcíny proti hepatitidě B (rDNK)



2001

Stanovení účinnosti vakcíny proti hepatitidě B se provádí buď *in vivo* porovnáním schopnosti přípravku vyvolat v daných podmínkách u myši nebo morčat tvorbu specifických protilátek proti povrchovému antigenu hepatitidy B (HBsAg) se stejnou schopností referenčního přípravku, nebo *in vitro* imunochemickým stanovením obsahu antigenu.

### Zkouška *in vivo*

*Výběr a rozdělení pokusných zvířat.* Použijí se zdravé myši z jednoho chovu, staré asi 5 týdnů. Použitý kmen myši pro tuto zkoušku dává výraznou odpověď v křivce závislosti odpovědi na dávce antigenu: vhodné jsou myši s haplotypem H-2<sup>d</sup> nebo H-2<sup>d</sup>. Také jsou vhodná zdravá morčata hmotnosti 300 g až 350 g (stará asi 7 týdnů) z jednoho chovu. Používají se zvířata stejného pohlaví. Rozdělí se do nejméně sedmi stejných skupin o počtu vhodném pro požadavky stanovení.

*Stanovení účinnosti zkoušeného přípravku.* K ředění přípravku se použije roztok *chloridu sodného R* (9 g/l), obsahující hliníkové adjuvans použité ve vakcíně nebo jiné vhodné rozpouštědlo. Připraví se nejméně tři ředění zkoušeného přípravku a odpovídající souhlasná ředění referenčního přípravku. Každému zvířeti ve skupině se intraperitoneálně vstříkne nejvýše 1,0 ml ředění určeného pro skupinu. Jedna skupina zvířat zůstane neočkována, vstříkne se jí pouze intraperitoneálně stejný objem ředícího roztoku. Ve vhodném časovém intervalu (např. mezi čtyřmi až šesti týdny) se zvířata v anestezii vykrvácejí a odděleně se získají jednotlivá séra. V těchto sérech se vhodnou imunochemickou metodou stanoví obsahy specifických HBsAg protilátek (2.7.1).

*Výpočty.* Výpočty se provedou běžnými statistickými metodami pro zkoušky s kvantitativní odpovědí (5.3).

Z rozložení reakčních hodnot naměřených ve všech sérech neočkované skupiny se stanoví nejvyšší reakční hladina, kterou lze nalézt při této zvláštní zkoušce u nevakcinovaných zvířat. Všechny odpovědi u vakcinovaných zvířat, které převyšují tuto hodnotu, se označí za sérokonverzi.

Procento zvířat vykazujících sérokonverzi v každé skupině se vhodně transformuje (např. probitovou transformací) a použije se model rovnoběžnosti křivek závislosti log dávky a odpovědi. Účinnost zkoušeného přípravku se stanoví ve vztahu k referenčnímu přípravku.

*Validační podmínky.* Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- pro zkoušený a referenční přípravek leží  $ED_{50}$  mezi nejnižší a nejvyšší dávkou podanou zvířatům,
- statistická analýza neukazuje žádnou významnou odchylku od linearity ani rovnoběžnosti,
- meze spolehlivosti relativní účinnosti jsou 33 % až 300 % stanovené účinnosti.

*Požadavek na účinnost.* Horní mez spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) stanovené relativní účinnosti je nejméně 1,0.

### Zkouška *in vitro*

Provede se imunochemické stanovení (2.7.1) obsahu antigenu, které odpovídá kritériím validovaným při zkoušce *in vivo*.

Prokazatelně vhodná jsou enzymově imunosorbentová stanovení (ELISA) a radioimunoanalýza (RIA) s použitím monoklonálních protilátek specifických pro ochranu indukující epitopy HBsAg. K analýze údajů, jež se mohou vhodně transformovat, se použijí vhodné počty ředění zkoušené vakcíny a zkoušeného přípravku a model rovnoběžnosti. Soupravy ke stanovení HBsAg *in vitro* jsou běžně dostupné a jejich zkušební postupy se mohou přizpůsobit ke stanovení účinnosti vakcíny *in vitro*.

Kritéria přijatelnosti pro daný referenční přípravek schvaluje na základě validačních údajů oprávněná autorita.

“

10. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.9 Metody farmaceutické technologie, kapitola 2.9.1 zní:

”

#### 2.9.1 Zkouška rozpadavosti tablet a tobolek

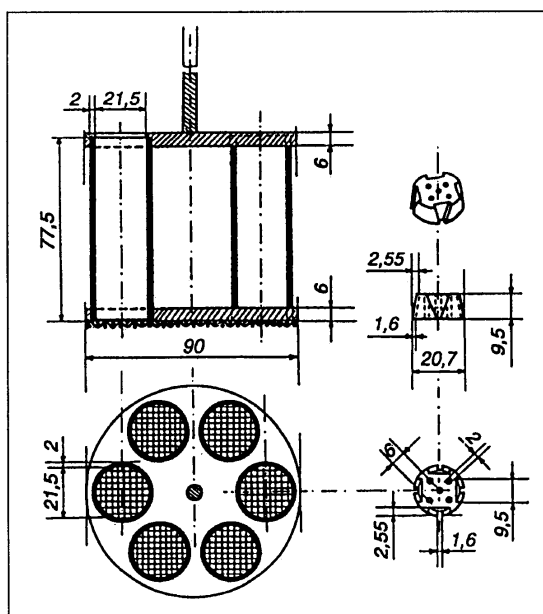


2001

*Podstata zkoušky.* Zkouškou se zjišťuje, zda se tablety nebo tobolky za níže popsaných experimentálních podmínek rozpadnou v předepsané kapalině během předepsané doby.

*K hodnocení se použije vybraná zkouška z níže uvedených.*

#### ZKOUŠKA A. TABLETY A TOBOLKY BĚŽNÝCH VELIKOSTÍ



Obr. 2.9.1-1

Rozměry v milimetrech



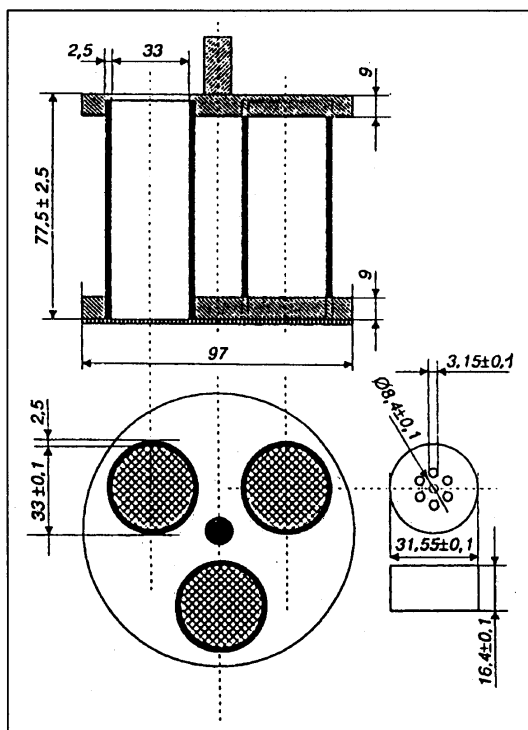
*Přístroj.* Hlavní částí přístroje (obr. 2.9.1-1) na stanovení rozpadavosti tablet a tobolek je pevný závěsný košík, v němž je ve vertikální poloze symetricky umístěno šest skleněných trubic dlouhých ( $77,5 \pm 2,5$ ) mm o vnitřním průměru 21,5 mm a o tloušťce stěn asi 2 mm. Každá trubice je opatřena vyjímatelným válcovitým diskem o průměru ( $20,7 \pm 0,15$ ) mm a výšce ( $9,5 \pm 0,15$ ) mm, vyrobeným z průhledného plastu, s relativní hustotou 1,18 až 1,20. Disky mají pět otvorů o průměru 2 mm, z nichž jeden je ve středu disku a ostatní čtyři jsou rovnoměrně rozmístěny v kruhu o poloměru 6 mm od středu disku. Na obvodu disku jsou pravidelně rozmístěny čtyři zářezy hluboké 2,55 mm, u horní základny disku široké 9,5 mm a u dolní základny široké 1,6 mm. Trubice jsou drženy ve vertikální poloze dvěma průhlednými plastovými deskami o průměru 90 mm a tloušťce 6 mm se šesti otvory. Otvary jsou pravidelně rozmístěny od středu desky. Dolní otvor trubic je uzavřen sítkou z nerezového drátu o průměru 0,635 mm a o velikosti ok 2,00 mm. Vzdálenost obou desek 77,5 mm je udržována kolmými kovovými tyčkami rozmístěnými po obvodu desek. Ve středu horní desky je připojena další kovová tyčka sloužící k upevnění k mechanickému zařízení, které zabezpečuje pohyb košíku ve vertikální poloze stálou frekvencí 28 až 32 zdvihů/min při výšce zdvihu 50 mm až 60 mm.

Košík se vkládá do vhodné nádoby, většinou do kádinky na objem 1000 ml. Objem kapaliny je takový, že pokud je zařízení v horní úvrati, je drátěná síťka alespoň 15 mm pod hladinou kapaliny, a je-li zařízení v dolní úvrati, je drátěná síťka alespoň 25 mm nad dnem kádinky a horní otevřené konce trubic zůstávají pod povrchem kapaliny. Tekutina je vhodným zařízením vytemperována na teplotu  $36\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $38\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Provedení závěsného košíku může být různé při zachování parametrů skleněných trubic a drátěné sítě.

*Postup zkoušky.* Do každé ze šesti trubic se vloží jedna tableta nebo tobolka, je-li předepsáno, použije se disk. Závěsný košík se umístí do kádinky obsahující předepsanou tekutinu. Přístroj se uvede do chodu na předepsanou dobu a poté se kontroluje stav tablet nebo tobolek.

## ZKOUŠKA B. VELKÉ TABLETY A VELKÉ TOBOLKY



**Obr. 2.9.1-2**

Rozměry v milimetrech

*Přístroj.* Hlavní částí přístroje (obr. 2.9.1-2) na stanovení rozpadavosti tablet a tobolek je pevný závěsný košík, v němž jsou ve vertikální poloze symetricky umístěny tři skleněné trubice dlouhé ( $77,5 \pm 2,5$ ) mm o vnitřním průměru

(33,0 ±0,5) mm a o tloušťce stěn (2,5 ±0,5) mm. Každá trubice je opatřena vyjímatelným válcovitým diskem o průměru (31,55 ±0,15) mm a výšce (16,4 ±0,1) mm, vyrobeným z průhledného plastu s relativní hustotou 1,18 až 1,20. Disky mají sedm otvorů o průměru 3,15 mm, z nichž jeden je ve středu disku a ostatních šest je rovnoměrně rozmístěno v kruhu o poloměru 4,2 mm od středu disku. Trubice jsou drženy ve vertikální poloze dvěma průhlednými plastovými deskami o průměru 97 mm a tloušťce 9 mm se třemi otvory. Otvory jsou pravidelně rozmístěny od středu desky. Dolní otvor trubice je uzavřen sítkou z nerezového drátu o průměru (0,62 ±0,02) mm a o velikosti ok (2,0 ±0,2) mm. Vzdálenost obou desek 77,5 mm je udržována kolmými kovovými tyčkami rozmístěnými po obvodu desek. Ve středu horní desky je připojena další kovová tyčka, sloužící k upevnění k mechanickému zařízení, které zabezpečuje pohyb košíku ve vertikální poloze stálou frekvencí 29 až 32 zdvihů/min při výšce zdvihu (55 ±2) mm.

Košík se vkládá do vhodné nádoby, většinou do kádinky na objem 1000 ml. Objem kapaliny je takový, že pokud je zařízení v horní úvratí, je drátěná síťka alespoň 15 mm pod hladinou kapaliny, a je-li zařízení v dolní úvratí, je drátěná síťka alespoň 25 mm nad dnem kádinky a horní otevřené konce trubice zůstávají pod povrchem kapaliny. Tekutina je vhodným zařízením vytemperována na teplotu 35 °C až 39 °C.

Provedení závěsného košíku může být různé při zachování parametrů skleněných trubic a drátěné sítě.

*Postup zkoušky.* Do každé ze tří trubic se vloží jedna tableta nebo tobolka a disk. Závěsný košík se umístí do kádinky obsahující předepsanou tekutinu. Přístroj se uvede do chodu na předepsanou dobu a poté se kontroluje stav tablet nebo tobolek.

## HODNOCENÍ

Vzorek vyhovuje zkoušce, jestliže se rozpadly všechny tobolky nebo tablety. Tableta nebo tobolka se pokládá za rozpadlou, jestliže:

- na síťce nezůstal žádný zbytek nebo
- zůstal zde měkký zbytek bez tvrdého nezvlhčeného jádra, nebo
- na síťce nebo přilepené ke spodní části disku zůstaly úlomky obalu obalovaných tablet, případně úlomky tobolek.

“

11. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.9 Metody farmaceutické technologie, se za kapitolu 2.9.26 doplňuje kapitola 2.9.27 a kapitola 2.9.28, které znějí:

”

### 2.9.27 Hmotnostní stejnoměrnost jednotlivých dávek ve vícedávkových obalech

2001



*Tato zkouška je určena pro perorální lékové formy, jako jsou granule, prášky pro perorální použití a tekutiny pro perorální použití, které jsou dodávány ve vícedávkových obalech opatřených dávkovacím zařízením.*

Zváží se jednotlivě dvacet dávek, které byly náhodně odebrány z jednoho nebo více obalů opatřených dávkovacím zařízením a stanoví se jednotlivá a průměrná hmotnost.

Nejvýše dvě jednotlivé hmotnosti se mohou odchýlit od průměrné hmotnosti o více než 10 % a žádná se nesmí odchýlit o více než 20 %.

### 2.9.28 Zkouška na využitelnou hmotnost nebo objem tekutých a polotuhých přípravků

2001



*Tato zkouška je určena pro tekutiny (roztoky, emulze a suspenze) a polotuhé přípravky dodávané v jednodávkových obalech, kde se používá pouze část obsahu.*

#### *Tekuté přípravky*

Obsah jednoho obalu se vyprázdní tak úplně, jak je to možné, a stanoví se, jak je vhodné, hmotnost nebo objem obsahu. V případě emulzí a suspenzí se obal před vyprázdněním protřepe. Hmotnost nebo objem nesmí být menší než údaj uvedený v označení na obalu.

#### *Polotuhé přípravky*

Obsah jednoho obalu se vyprázdní tak úplně, jak je to možné. Hmotnost obsahu nesmí být menší, než je uvedeno v označení na obalu.

“

12. 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:

- a) přesné označení lékárny (zdravotnického zařízení),
- b) datum přípravy zkoumadla a jméno (zkratka) osoby, která zkoumadlo připravila,
- c) přesný název při předpisu „Signa suo nomine“ a složení při předpisu „Signa cum formula“,
- d) je-li zkoumadlo omamná látka, zvláště nebezpečný jed, žiravina 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 těkavá kapalina, mísitelná s vodou a lihem 96%.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,824. $n_D^{20}$ : asi 1,382.

TV: asi 103 °C.

##### Acetaldehyd R

 $M_r$  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

 $M_r$  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 RSI

Acetylační směs

25,0 ml *acetanhydridu R* se rozpustí v *pyridinu bezvodém R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Uchovává se chráněn před světlem a vzduchem.

##### Aceton R

Viz článek *Acetinum*.

**Acetonitril R**C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>NM<sub>r</sub> 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:**Transmittance (2.2.25)*: nejméně 98 % při 255 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:*Transmittance (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 RI**Vyhovuje požadavkům předepsaným pro *acetonitril R* a následujícím dodatečným požadavkům:Obsahuje nejméně 99,9 % sloučeniny C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N.*Absorbance (2.2.25)*. Absorbance při 200 nm za použití *vody R* jako kontrolní kapaliny je nejvýše 0,10.**Acetylacetamid R**C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 101,1

CAS 5977-14-0

3-Oxobutanamid

TT: 53 °C až 56 °C.

**Acetylaceton R**C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>20</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>M<sub>r</sub> 379,5

Bílý krystalický prášek.

**Acetylugenol R**C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 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 % 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 % předestiluje při 49 °C až 53 °C.

**Acetylcholiniumchlorid R** $C_7H_{16}ClNO_2$  $M_r$  181,7

CAS 60-31-1

Krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve studené vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru. Rozkládá se v horké vodě a v alkáliích.

Uchovává se při -20 °C.

**N-Acetyl-ε-kaprolaktam R** $C_8H_{13}NO_2$  $M_r$  155,2

CAS 1888-91-1

N-Acetylhexan-6-laktam

Bezbarvá kapalina, mísitelná s ethanolem.

 $d_{20}^{20}$  : asi 1,100. $n_D^{20}$  : asi 1,489. $TV$ : asi 135 °C.**N-Acetyltryptofan R** $C_{13}H_{14}N_2O_3$  $M_r$  246,3

CAS 1218-34-4

Kyselina 2-acetylamino-3-(3-indolyl)propanová; N-acetyl-L-tryptofan

Bílý nebo téměř bílý prášek, nebo bezbarvé krystaly. Je těžce rozpustný ve vodě, rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

 $TT$ : asi 205 °C.

*Stanovení obsahu.* 10,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 90) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml. Stanoví se, jak je uvedeno ve zkoušce 1,1'-ethylidenbistryptofan a jiné příbuzné látky, viz článek *Tryptophanum*. Plocha hlavního píku na chromatogramu je nejméně 99,0 % plochy všech píků.

**Acetyltyrosinethylester R** $C_{13}H_{17}NO_4 \cdot H_2O$  $M_r$  269,3

CAS 36546-50-6

Monohydrát N-acetyl-L-tyrosinethylesteru; monohydrát ethyl-(S)-2-acetamido-3-(4-hydroxyfenyl)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. $A_{1cm}^{1\%}$  : 60 až 68; měří se při 278 nm v lihu 96% R.**Acetyltyrosinethylester 0,2 mol/l RS**

0,54 g *acetyltyrosinethylesteru R* se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 10,0 ml.

**Adenosin R** $C_{10}H_{13}N_5O_4$  $M_r$  267,2

CAS 58-61-7

**6-Amino-9-β-D-ribofuranosyl-9H-purin**

Bílý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu, v lihu 96% a v etheru. Rozpouští se ve zředěných roztocích kyselin.

*TT*: asi 234 °C.

**Agarosa-DEAE pro výměnnou iontovou chromatografii R**

CAS 57407-08-6

Sít'ovaná agarosa substituovaná dimethylaminoethylovými skupinami, ve formě kuliček.

**Agarosa pro elektroforézu R**

CAS 9012-36-6

Neutrální lineární polysacharid, jehož hlavní podíl je odvozen od agaru.

Bílý nebo 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 sít'ovaná pro chromatografii R**

CAS 61970-08-9

Připravuje se z agarosy reakcí s 2,3-dibrompropanolem v silně alkalickém prostředí.

Je dodávána jako nabobtnalé kuličky o průměru 60 μm až 140 μm ve formě 4% suspenze ve vodě R. Používá se k dělení bílkovin s  $M_r$  6 · 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 sít'ovaná pro chromatografii RI**

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 sít'ovaná polyakrylamidem R**

Je to agarosa sít'ovaná polyakrylamidem. Je vhodná pro dělení globulinů s  $M_r$  2 · 10<sup>4</sup> až 35 · 10<sup>4</sup>.

**Akonitin R** $C_{34}H_{47}NO_{11}$  $M_r$  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** $C_3H_5NO$  $M_r$  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 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 vody R a zfiltruje se.

**Aktivní uhlí R**

Viz článek *Carbo activatus*.

**Alanin R**

Viz článek *Alaninum*.

 **$\beta$ -Alanin R**

$C_3H_7NO_2$

$M_r$  89,1

CAS 107-95-9

Kyselina 3-aminopropionová

Obsahuje nejméně 99 %  $C_3H_7NO_2$ .

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v acetonu a v etheru.

*TT*: asi 200 °C, za rozkladu.

**Albumin hovězí R**

CAS 9048-46-8

Obsahuje asi 96 % bílkovin.

Bílý až světle žlutavě hnědý prášek.

*Voda*, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 0,800 g zkoušené látky.

Albumin hovězí použitý ke stanovení účinnosti tetracosaktidu je prostý pyrogenních látek, bez proteolytické aktivity přezkoušené vhodnou metodou, např. za použití chromogenního substrátu a bez kortikosteroidní aktivity stanovené měřením fluorescence, popsáným ve stanovení účinnosti v článku *Tetracosactidum*.

**Albumin lidský RS**

Viz článek *Albumini humani solutio*.

**Albumin lidský RSI**

*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.

**Aldrin R**

$C_{12}H_8Cl_6$

$M_r$  364,9

CAS 309-00-2

*TV*: asi 145 °C.

*TT*: asi 104 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).



**Alizarin S R** $C_{14}H_7NaO_7S \cdot H_2O$  $M_r$  360,3

CAS 130-22-3

Colour Index 58005; Schultz 1145

Sodná sůl kyseliny 3,4-dihydroxy-2-antrachinonsulfonové, monohydrát.

Oranžově žlutý prášek, snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

**Alizarin S RS**

Roztok 1 g/l.

*Zkouška citlivosti.* Jestliže se použije pro stanovení titru *chloristanu barnatého* 0,05 mol/l VS za podmínek uvedených v odstavci *chloristan barnatý* 0,05 mol/l VS (4.2.2), ve zkoušce Stanovení titru žluté zbarvení se změní na oranžově červené.

*Barevný přechod.* pH 3,7 (žlutá) až pH 5,2 (fialová).**Allylthiokyanat R** $C_4H_5NS$  $M_r$  99,2

CAS 57-06-7

Bezbarvá čirá kapalina, silně dráždicí, těžce rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96%.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,015.

TV: 148 °C až 154 °C.

**Aloin R** $C_{21}H_{22}O_9 \cdot H_2O$  $M_r$  436,4

CAS 1415-73-2

Barbaloin

10-( $\beta$ -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 popsanych v článku *Chlordiazepoxidi hydrochloridum*. Nanáší se 5  $\mu$ l 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<sub>3</sub>  $M_r$  17,03 CAS 7664-41-7

Obsahuje nejméně 32,0 % NH<sub>3</sub>.

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 směšného indikátoru RS.

1 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS odpovídá 17,03 mg NH<sub>3</sub>.

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> ( $M_r$  17,03).

*Příprava.* 67 g amoniaku 26% R se zředí vodou R na 100 ml.

$d_{20}^{20}$ : 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> ( $M_r$  17,03).

*Příprava.* 41 g amoniaku 26% R se zředí vodou R na 100 ml.

**Amoniak zředěný RS2**

Obsahuje 33 g/l až 35 g/l NH<sub>3</sub> ( $M_r$  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> ( $M_r$  17,03).

*Příprava.* 0,7 g amoniaku 26% R se zředí vodou R na 100 ml.

**Amoniak prostý olova RS**

Vyhovuje požadavkům předepsaným v odstavci *Amoniak zředěný RS1* a následující dodatečné zkoušce: K 20 ml se přidá 1 ml kyanidu draselného prostého olova RS, zředí se vodou R na 50 ml a přidá se 0,10 ml sulfidu sodného RS. Tento roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací roztok připravený bez přidání sulfidu sodného.

**(1R)-(-)-Amonium-10-kafrsulfonat R**

C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>S  $M_r$  249,3

Obsahuje nejméně 97,0 % sloučeniny C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>S.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-18^\circ \pm 2^\circ$ ; 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*.

 **$\alpha$ -Amylasy R**

1,4- $\alpha$ -D-Glukan-glukanohydrolasa (EC 3.2.1.1)

Bílý až světle hnědý prášek.

 **$\alpha$ -Amylasy RS**

Roztok  $\alpha$ -amylasy R s účinností 800 FAU/g.

**Amylen R**

C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>

$M_r$  70,1

CAS 513-35-9

2-Methyl-2-buten

Velmi hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

TV: 37,5 °C až 38,5 °C.

**Anethol R**

C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O

$M_r$  148,2

CAS 4180-23-8

1-Methoxy-4-(1-propenyl)benzen

Bílá krystalická hmota do 20 °C až 21 °C, nad 23 °C kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethanolu, dobře rozpustný v ethylacetatu a etheru petrolejovém.

$n_D^{25}$ : asi 1,56.

TV: asi 230 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Anisi etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku odpovídající *trans*-anetholu, s retenčním časem asi 41 min, je nejméně 99,0 % celkové plochy píků.

**cis-Anethol R**

C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O

$M_r$  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 ethylacetatu a v etheru petrolejovém.

$n_D^{25}$ : asi 1,56.

TV: asi 230 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Anisi etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 92,0 % celkové plochy píků.

**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 % divinylbenzenem. Vyrábí se ve formě kuliček, jejichž průměr je uveden za názvem zkoumadla ve zkouškách, kde je použit.

Iontoměnič se promývá na filtru ze slinutého skla (40) *hydroxidem sodným 1 mol/l RS* až do negativní reakce na chloridy v eluátu. Potom se promývá *vodou R* až do neutrální reakce.

Čerstvě suspendovaný iontoměnič ve *vodě prosté amonia R* se uchovává chráněn před atmosférickým oxidem uhličitým.

**Anex R1**

Je to iontoměnič obsahující kvarténní amoniové skupiny  $[-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3]$  navázané na polymerní mřížku z metakrylatu.

**Anex pro chromatografii silně zásaditý R**

Pryskyřice s kvarténními aminoskupinami připojenými k mřížce latexu zesíťovaného s divinylbenzenem.

**Anex silně zásaditý R**

Pryskyřice gelového typu v  $\text{OH}^-$  cyklu obsahující kvarténní amoniové skupiny  $-\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ , typ 1 navázané na polymerní mřížku z polystyrenu zesíťovaného s 8 % divinylbenzenu. Hnědé průsvitné kuličky.

Velikost částic: 0,2 mm až 1,0 mm.

Vlhkost: asi 50 %.

Celková výměnná kapacita: nejméně 1,2 mekv/ml.

**Anhydrid kyseliny maleinové R**

$\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_3$

$M_r$  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**

$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_3$

$M_r$  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**

$\text{C}_6\text{H}_7\text{N}$

$M_r$  93,1

CAS 62-53-3

Aminobenzen

Bezbarvá nebo slabě nažloutlá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

$d_{20}^{20}$ : asi 1,02.

TV: 183 °C až 186 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Anisaldehyd R**

$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_2$

$M_r$  136,1

CAS 123-11-5

4-Methoxybenzaldehyd

Olejevité 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 piků.

**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 RSI**

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**

Kyselina glutamová 1 mol/l, kyselina fosforečná 0,5 mol/l

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 ml.

**Anthracen R**

$C_{14}H_{10}$

$M_r$  178,2

CAS 120-12-7

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v chloroformu.

*TT*: asi 218 °C.

**Anthron R**

$C_{14}H_{10}O$

$M_r$  194,2

CAS 90-44-8

9(10*H*)-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 RSI**

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** $C_{15}H_{10}O_5$  $M_r$  270,2

CAS 520-36-5

4',5,7-Trihydroxyflavon

Světlý nažloutlý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 310 °C, za rozkladu.

*Chromatografie.* Zkouší se, postupem předepsaným v článku *Chamomillae romanae flos*. Nanáší se 10 µl roztoku v *methanolu R* (0,25 g/l). 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 v *methanolu R* (0,25 g/l). 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 %  $NH_3$ .

**Arabská klovatina R**

Viz článek *Acaciae gummi*.

**Arabská klovatina RS**

100 g *arabské klovatiny R* se rozpustí v 1000 ml *vody R*, míchá se pomocí mechanického míchadla 2 h a odstředí se 30 min při asi 2000  $g_n$ , dokud roztok není čirý.

Uchovává se v 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<sub>r</sub> 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 *Oxid uhličitý v medicínálních plynech (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 *hydrogenuhličitanu sodného R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

**Askorban sodný RS**CAS 134-03-2

3,5 g *kyseliny askorbové R* se rozpustí ve 20 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*. Připraví se v čas potřeby.

**Asiatikosid R**

C<sub>48</sub>H<sub>78</sub>O<sub>19</sub> M<sub>r</sub> 959 CAS 16830-15-2  
6-Deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $\beta$ -D-glukopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopyranosyl-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,23-trihydroxy-4 $\alpha$ -urs-12-en-28-oiat

Bílý hygrokopický prášek. Je dobře rozpustný v methanolu, těžce rozpustný v ethanolu, nerozpustný v acetonitrilu.

TT: asi 232 °C, za rozkladu.

Voda (2.5.12): 6,0 %.

Uchovává se chráněn před vlhkostí.

*Při použití pro kapalinovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za podmínek uvedených v článku *Centellae asiaticae herba*. Obsahuje nejméně 97,0 %, počítáno metodou normalizace.

**L-Aspartyl-L-fenylalanin R**

C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> M<sub>r</sub> 280,3 CAS 13433-09-5  
Kyselina (S)-3-amino-N-[(S)-2-fenylethyl-1-karboxyl]jantarová  
Bílý prášek.

TT: asi 210 °C, za rozkladu.

**Azid sodný R**

NaN<sub>3</sub> M<sub>r</sub> 65,0 CAS 26628-22-8

Bílý krystalický prášek nebo krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v etheru.

**Azomethin H R**

C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>NNaO<sub>8</sub>S<sub>2</sub> M<sub>r</sub> 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 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 R* (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. $n_D^{25}$ : 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** $C_{27}H_{42}ClNO_2 \cdot H_2O$  $M_r$  466,1

CAS 121-54-0

Benzyl-dimethyl-(2-{2-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)fenoxyl]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** $C_{14}H_{10}O_2$  $M_r$  210,2

CAS 134-81-6

Žlutý krystalický prášek, nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, ethylacetatu a toluenu.

TT: 95 °C.

**Benzin lékařský R**

Vysoce rafinovaná směs dearomatizovaných parafinických uhlovodíků vyrobená frakční destilací ropy. Čirá bezbarvá snadno zápalná kapalina s typickým pachem. Je prakticky nerozpustná ve vodě. Mísí se s ethanolem, lihem 96%, etherem, chloroformem, benzenem a s oleji, s výjimkou oleje ricinového. Snadno se odpařuje a páry, které jsou těžší než vzduch, jsou snadno zápalné, ve směsi se vzduchem jsou výbušné.

 $d_{20}^{20}$ : 0,652 až 0,691.*Obsah benzenu*. Nejvýše 0,5 %.*Destilační rozmezí (2.2.11)*. 98 % 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** $C_{13}H_{10}O$  $M_r$  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** $C_6H_4O_2$  $M_r$  108,1

CAS 106-51-4

2,5-Cyklohexadien-1,4-dion

Obsahuje nejvýše 98,0 %  $C_6H_4O_2$ .**Benzoin R** $C_{14}H_{12}O_2$  $M_r$  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.

**Benzokain R**Viz článek *Benzocainum*.**Benzoylargininethylesterhydrochlorid R** $C_{15}H_{23}ClN_4O_3$  $M_r$  342,8

CAS 2645-08-1

(S)-1-[4-(Ethoxykarbonyl)-4-(benzamido)butyl]guanidiniumchlorid

Bílý krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě a ethanolu, prakticky nerozpustný v etheru.

 $[\alpha]_D^{20}$ : -15° až -18°; měří se roztok 10 g/l. $A_{1cm}^{1\%}$ : 310 až 340; měří se roztok 0,01 g/l při 227 nm.

TT: asi 129 °C.

**Benzoylchlorid R** $C_7H_5ClO$  $M_r$  140,6

CAS 98-88-4

Bezbarvá k slzám dráždicí kapalina, dobře rozpustná v etheru, rozkládá se vodou a lihem 96%.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,21.

TV: asi 197 °C.

**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  $\mu$ l roztoku 0,3% (V/V) v *ethylacetatu R*. Po postříku 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  $\mu$ l roztoku (3 g/l) v *ethylacetatu R*. Po postříku 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-3 $\beta$ ,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-Bifenylyl R** $C_{12}H_{10}O$  $M_r$  170,2

CAS 90-43-7

4-Fenylfenol

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě.

TT: 164 °C až 167 °C.

**Bisbenzimid R** $C_{25}H_{27}Cl_3N_6O \cdot 5H_2O$  $M_r$  624,0

CAS 23491-44-3

Pentahydrát 4-{5-[5-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-benzimidazolyl]-2-benzimidazolyl}fenoltri-hydrochloridu

**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 s chloridem sodným* 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.

**Bismutičnan sodný R**

NaBiO<sub>3</sub>

$M_r$  280,0

CAS 12232-99-4

Obsahuje nejméně 85,0 % NaBiO<sub>3</sub>.

Žlutý nebo 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<sub>8</sub>H<sub>21</sub>NOSi<sub>2</sub>

$M_r$  203,4

CAS 10416-59-8

Bezbarvá kapalina.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,83.

**N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid R**

C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NOSi<sub>2</sub>

$M_r$  257,4

CAS 25561-30-2

BSTFA

Bezbarvá kapalina.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,97.

$n_D^{20}$ : asi 1,38.

TV<sub>12mm</sub>: asi 40 °C.

**Biuret R**

C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

$M_r$  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<sub>19</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>4</sub>

$M_r$  327,3

CAS 476-70-0

1,10-Dimethoxy-6α-aporfin-2,9-diol

Bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných roztocích kyselin.

$[\alpha]_D^{25}$ : 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.* Provede 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-trimethylbicyclo[2,2,1]heptan-2-ol

Bezbarvé krystaly, snadno sublimující. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, v etheru a etheru petrolejovém.

*TT*: asi 208 °C.

*Chromatografie*. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu G R* se nanese 10 µl roztoku (1 g/l) v *toluenu R* a vyvíjí se *chloroformem R* po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* (10 ml pro desku 200 mm x 200 mm) a zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C. Na chromatogramu je pouze jedna hlavní skvrna.

**Bornylacetat R** $C_{12}H_{20}O_2$  $M_r$  196,3

CAS 5655-61-8

*endo*-2-Bornylacetat

Bezbarvé krystaly nebo bezbarvá kapalina. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v etheru.

*TT*: asi 28 °C.

*Chromatografie*. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu G R* se nanese 10 µl 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.

**Bromeliny R**

CAS 37189-34-7

Koncentrát proteolytických enzymů získaný z *Ananas comosus* Merr.

Nevýrazně žlutý prášek.

*Účinnost*. 1 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** $KBrO_3$  $M_r$  167,0

CAS 7758-01-2

Bílý zrnitý prášek nebo krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

**Bromid draselný R**

Viz článek *Kalii bromidum*.

*Při použití pro infračervenou absorpční spektrofotometrii (2.2.24) vyhovuje následujícímu požadavku:*

2 mm silný vylisek látky předem sušené 1 h při 250 °C má téměř rovnou základní linii v oblasti při 4000  $cm^{-1}$  až 620  $cm^{-1}$ . Nevykazuje žádné maximum absorpce vyšší než 0,02 nad touto linií s výjimkou maxim při 3440  $cm^{-1}$  a 1630  $cm^{-1}$  (voda).

**Bromid jodný R**IBr  $M_r$  206,8 CAS 7789-33-5

Modročerné nebo 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>  $M_r$  360,4 CAS 7789-47-1

Bílé nebo slabě žluté krystaly nebo krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

**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.

**Bromofos R**C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>BrCl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PS  $M_r$  366,0 CAS 2104-96-3

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v trimethylpentanu).

**Bromofos-ethyl R**C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>BrCl<sub>2</sub>O<sub>3</sub>PS  $M_r$  394,0 CAS 4824-78-6

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v trimethylpentanu).

**Bromová voda R**

3 ml bromu R se třepou se 100 ml vody R do nasycení.

Uchovává se nad přebytkem bromu R chráněna před světlem.

**Bromová voda R1**

0,5 ml bromu R se třepe se 100 ml vody R.

Uchovává se chráněna před světlem a je použitelná nejdéle 1 týden.

**5-Brom-2'-deoxyuridin R**C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>  $M_r$  307,1 CAS 59-14-3

5-Brom-1-(2-deoxy-β-D-erythro-pentofuranosyl)-1H,3H-pyrimidin-2,4-dion

TT: asi 194 °C.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek předepsaných v článku Idoxuridinum; nanáší se 5 μl roztoku 0,25 g/l. Získaný chromatogram vykazuje jenom jednu hlavní skvrnu.

**Brucin R** $C_{23}H_{26}N_2O_4 \cdot 2H_2O$  $M_r$  430,5

CAS 357-57-3

10,11-Dimethoxystrychnin dihydrát

Bezbarvé krystaly těžce rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 178 °C.

**1-Butanol R** $C_4H_{10}O$  $M_r$  74,1

CAS 71-36-3

n-Butanol

Čirá bezbarvá kapalina mísitelná s lihem 96%.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,81.

TV: 116 °C až 119 °C.

**2-Butanol RI** $C_4H_{10}O$  $M_r$  74,1

CAS 78-92-2

Sek.butylalkohol

Obsahuje nejméně 99,0 %  $C_4H_{10}O$ .

Čirá bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,81.*Destilační rozmezí (2.2.11)*. Nejméně 95 % předestiluje při 99 °C až 100 °C.*Stanovení obsahu*. Stanoví se plynovou chromatografií za podmínek popsanych v článku *Alcohol isopropylicus*.**2-Butanon R** $C_4H_8O$  $M_r$  72,1

CAS 78-93-3

Ethylmethylketon

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, velmi snadno rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96 % a s etherem.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,81.

TV: 79 °C až 80 °C.

**Butansulfonan sodný R** $C_4H_9NaO_3S$  $M_r$  160,2

CAS 2386-54-1

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě.

TT: vyšší než 300 °C.

**Butylacetat R** $C_6H_{12}O_2$  $M_r$  116,2

CAS 123-86-4

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,88. $n_D^{20}$ : asi 1,395.*Destilační rozmezí (2.2.11)*. Nejméně 95 % předestiluje při 123 °C až 126 °C.**Butylacetat RI** $C_6H_{12}O_2$  $M_r$  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.*1-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*.

#### **Cefaěindihydrochlorid 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 RI**

Mikrokrystalická celulosa. Jemný bílý homogenní prášek o průměrné velikosti částic menší než 30  $\mu m$ .

*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**

Mikrokrytalická celulosa F<sub>254</sub>. Jemný bílý homogenní prášek o průměrné velikosti částic menší než 30 μm s fluorescenčním indikátorem pro detekce při 254 nm.

*Příprava tenké vrstvy:* 25 g se suspenduje ve 100 ml vody R, homogenizuje se 60 s v elektrickém mixéru a pečlivě a čistě se nanese vrstva o síle 0,1 mm na desky za použití nanášecího zařízení. Suší se na vzduchu.

**Cetrimid R**

Viz článek *Cetrimidum*.

**Cetrimoniumbromid R**

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.

$d_{20}^{20}$ : 0,922 až 0,927.

$n_D^{20}$ : 1,456 až 1,459.

*Teplota tuhnutí* (2.2.18): 0 °C až 1 °C.

*Destilační rozmezí* (2.2.11): 174 °C až 177 °C.

*Fenol.* 1 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 g se rozpustí v 5 ml roztoku lihu R 90% (V/V) a po kapkách se přidá čerstvě připravená bromová voda R. Po přidání nejvýše 0,5 ml vznikne žluté zbarvení trvající 30 min.

*Zbytek po odpaření.* Nejvýše 0,05 %. K 10,0 ml se přidá 25 ml vody R, odpaří se na vodní lázni a zbytek se vysuší do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C.

*Při použití v plynové chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % z celkové plochy píků.

**Cinchonidin R**

C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 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<sub>19</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 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<sub>9</sub>H<sub>8</sub>OM<sub>r</sub> 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.

**trans-Cinnamaldehyd R**C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>OM<sub>r</sub> 132,2

CAS 14371-10-9

(E)-3-Fenylprop-2-enal

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Cinnamomi etheroleum*. Obsahuje nejméně 99,0 %, počítáno metodou normalizace.

**Cinnamylacetat R**C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 176,2

CAS 103-54-8

3-Fenylprop-2-en-1-ylacetat

$n_D^{20}$ : asi 1,542.

TV: asi 262 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Cinnamomi etheroleum*. Obsahuje nejméně 99,0 %, počítáno metodou normalizace.

**Cín R**

Sn

A<sub>r</sub> 118,7

CAS 7440-31-5

Stříbrobílá zrna rozpustná v kyselině chlorovodíkové za vývoje vodíku.

*Arsen* (2.4.2). 0,1 g vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (10 μg/g).

**Citral R**C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>OM<sub>r</sub> 152,2

CAS 5392-40-5

Směs (2*E*)- a (2*Z*)-3,7-Dimethyl-2,6-oktadienal

Světle žlutá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%, etherem a glycerolem.

*Chromatografie.* Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF<sub>254</sub> R*. Na vrstvu se nanese 10 μl roztoku (1 g/l) v *toluenu R*. Chromatogram se vyvíjí směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se nechá vysušit na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

**Citronan draselný R**

Viz článek *Kalii citras*.

**Citronan měďnatý RS**

25 g *síranu měďnatého R*, 50 g *kyseliny citronové R* a 144 g *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 požadavkům:

- 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.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu GF<sub>254</sub> R* se nanese 10 µl roztoku (1 g/l) v *toluenu R* a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se nechá usušit na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

**Cyhalothrin R**

$C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$

$M_r$  449,9

CAS 91465-08-6].

$TV$ : 187 °C až 190 °C.

$TT$ : asi 49 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/µl v cyklohexanu).

**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 následujícím dodatečným požadavkům:

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 RI**

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 sirové 0,05 mol/l RS.

**Cyklohexylamin R** $C_6H_{13}N$  $M_r$  99,2

CAS 108-91-8

Bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s běžnými organickými rozpouštědly.

 $n_D^{20}$ : asi 1,460.

TV: 134 °C až 135 °C.

**p-Cymen R** $C_{10}H_{14}$  $M_r$  134,2

CAS 99-87-6

1-Isopropyl-4-methylbenzen

Bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 $d_{20}^{20}$ : 0,858. $n_D^{20}$ : asi 1,4895.

TV: 175 °C až 178 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum*.

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 96,0 % plochy všech získaných píků na chromatogramu.

**Cypermethrin R** $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$  $M_r$  416,3

CAS 52315-07-8

TV: 170 °C až 195 °C.

TT: 60 °C až 80 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**L-Cystein R** $C_3H_7NO_2S$  $M_r$  121,1

CAS 52-90-4

Prášek, snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v kyselině octové, prakticky nerozpustný v acetonu.

**Cysteiniumchlorid R**

Viz článek *Cysteini hydrochloridum*.

**L-Cystin R** $C_6H_{12}N_2O_4S_2$  $M_r$  240,3

CAS 56-89-3

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů. Rozkládá se při 250 °C.

$[\alpha]_D^{20}$  : -218° až -224°; měří se v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS*.

**Čerň amido 10B R** $C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$  $M_r$  616,5

CAS 1064-48-8

Colour Index 20470, Schultz 299

Disodná sůl kyseliny 4-amino-5-hydroxy-3-(4-nitrofenylazo)-6-fenylazo-2,7-naftalendisulfonové

Tmavě hnědý až černý prášek, mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

**Čerň amido 10B RS**Roztok *černě amido 10B R* (5 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny octové R* a *methanolu R* (10 + 90).**Čerň brilantní BN R** $C_{28}H_{18}N_5Na_4O_{14}S_4$  $M_r$  868,7

CAS 2519-30-4

Colour Index 28 440, Čerň BN, Nigrum BN

Tetrasodná sůl kyseliny 2-[4-(4-sulfofenylazo)-7-sulfo-1-naftylazo]-1-hydroxy-7-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 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.

**Červeň bromkresolová R** $C_{21}H_{16}Br_2O_5S$  $M_r$  540,2

CAS 115-40-2

3,3'-Dibrom-*o*-kresolsulfonftalein;4,4'-(3*H*-2,1-benzoxathiol-3-yliden)bis(2-brom-6-methylfenol)-S,S-dioxid

Narůžovělý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

**Červeň bromkresolová RS**

50 mg *červeně bromkresolové R* se rozpustí ve směsi 0,92 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a 20 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 100 ml.

*Zkouška citlivosti*. K 0,2 ml zkoušeného roztoku se přidá 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 0,05 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS*; roztok je modrofialový. Ke změně zbarvení na žluté se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS*.

*Barevný přechod*. pH 5,2 (žlutá) až 6,8 (modrofialová).

**Červeň fenolová R**Viz článek *Phenolsulfonphthaleinum*.

**Červeň fenolová RS**

0,1 g *červeně fenolové R* se rozpustí ve směsi 2,82 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a 20 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 100 ml.

*Zkouška citlivosti.* K 0,1 ml zkoušeného roztoku se přidá 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. Roztok je žlutý a přidáním nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS* vznikne červenofialové zbarvení.

*Barevný přechod:* pH 6,8 (žlutá) až pH 8,4 (červenofialová).

**Červeň 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.

**Červeň 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]vinyl}-1-ethylcholiniumjodid

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 RS**

0,1 g *červeně Kongo R* se rozpustí ve směsi 20 ml *lihu 96% R* a *vody 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 0,3 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*. Roztok je modrý a přidáním nejvýše 0,3 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* vznikne růžové zbarvení.

*Barevný přechod:* pH 3,0 (modrá) až pH 5,0 (růžová).

**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-nitrobenzodiazoniová 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 (0,1 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. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů. Rozkládá se při 250 °C.

TT: asi 195 °C.

Při použití pro stanovení obsahu seskviterpenových kyselin v článku *Valerianae radix* vyhovuje následujícím dodatečným požadavkům:

$A_{1cm}^{1\%}$ : 355 až 378, měří se při 500 nm v hydroxidu draselném 1 mol/l RS.

Stanovení obsahu. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za podmínek uvedených v článku *Valerianae radix* o koncentraci porovnávacího roztoku. Obsahuje nejméně 95 % danthronu, počítáno metodou normalizace.

***o,p'*-DDD R** $C_{14}H_{10}Cl_4$  $M_r$  320,0

CAS 53-19-0

1-(2-Chlorfenyl)-1-(4-chlorfenyl)-2,2-dichlorethan

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

***p,p'*-DDD R** $C_{14}H_{10}Cl_4$  $M_r$  320,0

CAS 72-54-8

1,1-Bis(4-chlorfenyl)-2,2-dichlorethan

TV: asi 193 °C.

TT: asi 109 °C

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

***o,p'*-DDE R** $C_{14}H_8Cl_4$  $M_r$  318,0

CAS 3424-82-6

1-(2-Chlorfenyl)-1-(4-chlorfenyl)-2,2-dichlorethylen

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

***p,p'*-DDE R** $C_{14}H_8Cl_4$  $M_r$  318,0

CAS 72-55-9

1,1-Bis(4-chlorfenyl)-2,2-dichlorethylen

TV: 316 °C až 317 °C.

TT: 88 °C až 89 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

***o,p'*-DDT R** $C_{14}H_9Cl_5$  $M_r$  354,5

CAS 789-02-6

1-(2-Chlorfenyl)-1-(4-chlorfenyl)-2,2,2-trichlorethan

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

***p,p'*-DDT R** $C_{14}H_9Cl_5$  $M_r$  354,5

CAS 50-29-3

1,1-Bis(4-chlorfenyl)-2,2,2-trichlorethan

TV: asi 260 °C.

TT: 108 °C až 109 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).



**Dekan R**

$C_{10}H_{22}$   $M_r$  142,3 CAS 124-18-5  
Bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě.

$n_D^{20}$ : asi 1,411.  
TV: asi 174 °C.

**Dekanol R**

$C_{10}H_{22}O$   $M_r$  158,3 CAS 112-30-1  
n-Decylalkohol

Viskózní kapalina, tuhne při asi 6 °C, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a etheru.

$n_D^{20}$ : asi 1,436.  
TV: asi 230 °C.

**Dekansulfonan sodný R**

$C_{10}H_{21}NaO_3S$   $M_r$  244,3 CAS 13419-61-9  
Krytalický prášek nebo bílé či téměř bílé šupinky. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu.

**Deltamethrin R**

$C_{22}H_{19}Br_2NO_3$   $M_r$  505,2 CAS 52918-63-5

TV: asi 300 °C.  
TT: asi 98 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**2'-Deoxyuridin R**

$C_9H_{12}N_2O_5$   $M_r$  228,2 CAS 951-78-0  
1-(2-Deoxy-β-D-erythro-pentofuranosyl)-1H,3H-pyrimidin-2,4-dion

TT: asi 165 °C.

*Chromatografie.* Provede se tenkovrstvá chromatografie za podmínek uvedených v článku *Idoxuridinum*. Nanáší se 5 μl 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 potažená vrstvou silikagelu vhodné tloušťky a velikosti částic [obvykle 2 μm až 10 μm pro desky používané pro vysoce účinnou tenkovrstvou chromatografii (HPTLC) a 5 μm až 40 μm pro desky používané při normální tenkovrstvé chromatografii (TLC)]. V případě potřeby je velikost částic uvedena za názvem zkoumadla použitého ve Zkoušce na čistotu, kde se použije.

Vrstva může obsahovat organické pojivo.

*Chromatografické dělení.* Na vrstvu se nanese přiměřený objem (10 μl v tenkovrstvé chromatografii a 1 μl až 2 μl ve vysoce účinné tenkovrstvé chromatografii) roztoku pro test způsobilosti TLC RS. Využívá se směs 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 μl až 10 μl pro normální TLC desky a 0,2 μl až 2 μl pro desky HPTLC) roztoku kyseliny benzoové R (1 g/l) ve směsi objemových dílů ethanolu R a cyklohexanu R (15 + 85). Využívá se po dráze dlouhé přes polovinu výšky desky stejnou směsí rozpouštědel. Po odpaření rozpouštědel se

pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na deskách pro normální TLC jsou tmavé skvrny kyseliny benzoové na fluoreskujícím pozadí přibližně ve středu chromatogramu pro množství 2 µg a větší. Na deskách pro HPTLC jsou tmavé skvrny kyseliny benzoové na fluoreskujícím pozadí přibližně ve středu chromatogramu pro množství 0,2 µg a větší.

#### **Deska s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> 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<sub>254</sub> 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 potažená vrstvou silanizovaného silikagelu vhodné tloušťky a velikosti částic [obvykle 2 µm až 10 µm pro desky používané pro vysoce účinnou tenkovrstvou chromatografii (HPTLC) a 5 µm až 40 µm pro desky používané při normální tenkovrstvé chromatografii (TLC)]. V případě potřeby je velikost částic uvedena za názvem zkoumadla použitého ve Zkoušce na čistotu, kde se použije.

Vrstva může obsahovat organické pojivo.

*Chromatografické dělení.* Do 250 ml 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*, okyslí 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 µl pro normální TLC desky a asi 1 µl až 2 µl pro HPTLC desky) dichlormethanového roztoku na každý ze tří oddělených bodů. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *dioxanu R* (10 + 25 + 65) po dráze dlouhé 2/3 výšky desky. Deska se suší 30 min při 120 °C, deska se nechá vychladnout, vrstva se postříká roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (35 g/l) v *2-propanolu R* a zahřívá se při 150 °C do objevení skvrn. Potom se vystaví působení par amoniaku do vybělení pozadí. Na chromatogramu jsou čtyři 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**

<sup>2</sup>H<sub>2</sub>O

*M<sub>r</sub>* 20,03

CAS 7789-20-0

Těžká voda

Stupeň deuterizace je nejméně 99,7 %.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 1,11.

*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: asi 1,328.

*TV*: asi 101 °C.

**Deuterizovaná kyselina octová R** $M_r$  64,1

CAS 1186-52-3

Kyselina tetradeuterooctová; kyselina-*d* octová- $d_3$ 

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** $M_r$  64,1

CAS 666-52-4

 $(^2H_6)$ -Aceton; aceton- $d_6$ 

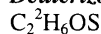
Stupeň deuterizace je nejméně 99,5 %.

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou, s dimethylformamidem, s ethanolem, s etherem a s methanolem.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,87. $n_D^{20}$ : asi 1,357.

TV: asi 55 °C.

Voda a deuteriumoxid. Nejvýše 0,1 %.

**Deuterizovaný dimethylsulfoxid R** $M_r$  84,2

CAS 2206-27-1

 $(^2H_6)$ -Dimethylsulfoxid; dimethylsulfoxid- $d_6$ 

Stupeň deuterizace je nejméně 99,8 %.

Velmi hygroskopická, viskózní, prakticky bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, v acetonu, v ethanolu a v etheru.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,18.

TT: 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 fólie.

 $d_{20}^{20}$ : 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  $\mu\text{m}$  až 80  $\mu\text{m}$ .

**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  $\mu\text{m}$  až 120  $\mu\text{m}$ .

**3,3'-Diamoniumbenzidiniumtetrachlorid R**

$\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{Cl}_4\text{N}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  396,1

CAS 7411-49-6

3,3',4,4'-Bifenyltetramin

Většinou bílý nebo slabě růžový prášek, dobře rozpustný ve vodě.

TT: asi 280 °C, za rozkladu.

**Diazinon R**

$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3\text{PS}$

$M_r$  304,3

CAS 333-41-5

TV: asi 306 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/ $\mu\text{l}$  v trimethylpentanu).

**Dibutylamin R**

$\text{C}_8\text{H}_{19}\text{N}$

$M_r$  129,3

CAS 111-92-2

N-Butylbutan-1-amin

Bezbarvá kapalina.

$n_D^{20}$ : asi 1,417.

TV: asi 159 °C.

**Dibutylether R**

$\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$

$M_r$  130,2

CAS 142-96-1

Bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a s etherem.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,77.

$n_D^{20}$ : asi 1,399.

Jestliže látka nevyhovuje zkoušce na peroxidy, nedestiluje se.

**Peroxidy.** 8 ml škrobu s jodidem draselným RS se přenese 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 chráněn před světlem; nevznikne žádné zbarvení.

Název a koncentrace přidané stabilizační látky se uvedou v označení na obalu.

**Dibutylftalat R**

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$

$M_r$  278,3

CAS 84-74-2

Dibutylbenzen-1,2-dikarboxylat

Čirá bezbarvá nebo slabě zbarvená olejovitá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s acetonem, s lihem 96% a s etherem.

$d_{20}^{20}$ : 1,043 až 1,048.

$n_D^{20}$ : 1,490 až 1,495.

**Dicyklohexylamin R**

$\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{N}$

$M_r$  181,3

CAS 101-83-7

N,N-Dicyklohexylamin

Bezbarvá kapalina, mírně rozpustná ve vodě, mísitelná s většinou běžných organických rozpouštědel.

$n_D^{20}$ : asi 1,484.

TV: asi 256 °C.

Teplota tuhnutí (2.2.18): 0 °C až 1 °C.

**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.

**Dieldrin R**

$C_{12}H_8Cl_6O$

$M_r$  380,9

CAS 60-57-1

TV: asi 385 °C.

TT: asi 176 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**Diethanolamin R**

$C_4H_{11}NO_2$

$M_r$  105,1

CAS 111-42-2

2,2'-Iminobisethanol

Čirá viskózní, slabě žlutá 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 dodatečné 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 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *difenylfenylenoxid-polymerem R* (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**

Viz odstavec *N,N*-Diethylethylendiamin R.

***N,N*-Diethylethylendiamin R** $C_6H_{16}N_2$  $M_r$  116,2

CAS 100-36-7

*N,N*-Diethylethan-1,2-diamin

Bezbarvá nebo světle žlutá olejovitá kapalina, silného amoniakálního pachu, dráždící 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**

Antiontoměničová 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 nebo šedožlutý prášek, je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v pyridinu. Látku je možno připravit následovně: 1,7 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.

**Diethylen glykol 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 hygrokopická 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 žlutý 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**

Roztok (1 g/l) v kyselině sírové R.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Difenylamin RS1**

Roztok (10 g/l) v kyselině sírové R. Roztok je bezbarvý.

**Difenylamin RS2**

1 g difenylaminu R se rozpustí ve 100 ml kyseliny octové ledové R a přidá se 2,75 ml kyseliny sírové R. Přípravuje 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.

**Difenylobenzidin R** $C_{24}H_{20}N_2$  $M_r$  336,4

CAS 531-91-9

N,N'-Difenylobenzidin; N,N'-difenylobifenyl-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.

**Difenyľfenylenoxid-polymer R**Poly(2,6-difenyľ-*p*-fenyľoxid)

Bílé nebo téměř bílé porézní kuličky. Velikost kuliček je uvedena za názvem zkoumadla v příslušné zkoušce.

**Difenyľkarbazid R**C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O*M<sub>r</sub>* 242,3

CAS 140-22-7

1,5-Difenyľkarbonohydrazid

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.

**Difenyľkarbazid RS**

0,2 g difenyľkarbazidu R se rozpustí v 10 ml kyseliny octové ledové R a zředí se ethanolem R na 100 ml. Připraví se v čas potřeby.

**Difenyľkarbazon R**C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O*M<sub>r</sub>* 240,3

CAS 538-62-5

1,5-Difenyľkarbazon

Oranžově žlutý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

*TT*: asi 157 °C, za rozkladu.**Difenyľoxazol R**C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>NO*M<sub>r</sub>* 221,3

CAS 92-71-7

2,5-Difenyľoxazol

Bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu, mírně rozpustný v dioxanu a v kyselině octové ledové.

*A*<sub>1cm<sup>1%</sup></sub> asi 1260; měří se roztok v methanolu R při 305 nm.*TT*: asi 70 °C.

Při použití pro měření kapalínové scintilace má vhodnou analytickou jakost.

**Difosforečnan sodný R**Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> · 10H<sub>2</sub>O*M<sub>r</sub>* 446,1

CAS 13472-36-1

Dekahydrát difosforečnanu sodného; pyrofosforečnan sodný dekahydrát

Bezbarvé slabě zvětrávající krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

**Digitonin R**C<sub>56</sub>H<sub>92</sub>O<sub>29</sub>*M<sub>r</sub>* 1229

CAS 11024-24-1

3β-[O-β-D-Glukopyranosyl-(1→3)-O-β-D-galaktopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→3)]-O-β-D-galaktopyranosyl-(1→4)-O-β-D-galaktopyranosyloxy]-(25*R*)-5α-spirostan-2α,15β-diol

Krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, mírně rozpustné v ethanolu, těžce rozpustné v lihu 96%, prakticky nerozpustné v etheru.

**Digitoxin R**Viz článek *Digitoxinum*.**Dihydrogenfosforečnan amonný R**(NH<sub>4</sub>)H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>*M<sub>r</sub>* 115,0

CAS 7722-76-1

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

*Hodnota pH* (2.2.3). 4,2; měří se roztok (23 g/l).



**Dihydrogenfosforečnan draselný R**

Viz článek *Kalii dihydrogenophosphas*.

**Dihydrogenfosforečnan draselný 0,2 mol/l RS**

Roztok obsahující 27,22 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* v 1000,0 ml.

**Dihydrogenfosforečnan sodný R**

Viz článek *Natrii dihydrogenophosphas dihydricus*.

**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 monohydrát 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-5*H*-dibenz[*b,f*]azepin-5-karboxamid

*TT*: 205 °C až 210 °C.

**1,3-Dihydroxynaftalen R**

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2$   $M_r$  160,2 CAS 132-86-5

1,3-Naftalendiol

Krystalický obvykle hnědě fialový prášek, snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

*TT*: asi 125 °C.

**2,7-Dihydroxynaftalen R**

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2$   $M_r$  160,2 CAS 582-17-2

2,7-Naftalendiol

Jehličky, dobře rozpustné ve vodě, lihu 96% a etheru.

*TT*: asi 190 °C.

**2,7-Dihydroxynaftalen RS**

10 mg 2,7-dihydroxynaftalenu R se rozpustí ve 100 ml *kyseliny sírové R*. Roztok se nechá stát do odbarvení a je použitelný 2 dny.

**Dichlorbenzen R**

$\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$   $M_r$  147,0 CAS 95-50-1

1,2-Dichlorbenzen

Bezbarvá olejovitá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v ethanolu a v etheru.

$d_{20}^{20}$ : asi 1,31.

*TV*: asi 180 °C.

**Dichlorethan R** $C_2H_4Cl_2$  $M_r$  99,0

CAS 107-06-2

1,2-Dichlorethan; ethylenchlorid

Čirá bezbarvá kapalina, rozpustná v asi 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 metafosforečné R (200 g/l) a zředí se vodou R na 250,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se rychle titruje zkoušeným roztokem, který se přidává z mikroburety 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.

**Dichlofenthion R** $C_{10}H_{13}Cl_2O_3PS$  $M_r$  315,2

CAS 97-17-6

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**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 následujícímu dodatečnému požadavku:

Fluorescence (2.2.21): Fluorescence látky při budícím záření 365 nm měřená při 460 nm v 1cm kyvetě není vyšší než fluorescence roztoku chininu R (0,002 μg/ml) v kyselině sírové 0,5 mol/l RS. Měřeno za stejných podmínek.

**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-Dichlorvinylidimethylfosfat

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 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 g/l.

**Dichroman draselný RS1**

Roztok 5 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 přeneso do 12ml skleněného uzavíratelného válce o průměru 1,5 cm. Zcela se naplní zkoušenou kapalinou, silně protřepe a nechá se stát ve tmě 30 min. Nevznikne žádné zbarvení.

Uchovává se chráněn před světlem.

Název a koncentrace přidané stabilizační látky jsou uvedeny v označení na obalu.

**Dikarboxidiniumchlorid R** $C_{20}H_{26}Cl_2N_2O_6$  $M_r$  461,3

CAS 56455-90-4

Dichlorid kyseliny 4,4'-[(4,4'-diamoniobifenyl-3,3'-diyl)dioxy]dibutanové

**Dimetikon R**Viz článek *Dimeticonum*.**4,4'-Dimethoxybenzofenon R** $C_{15}H_{14}O_3$  $M_r$  242,3

CAS 90-96-0

Bis(4-Methoxyfenyl)methanon, bis(4-methoxyfenyl)keton

Bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě a těžce rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 142 °C.

**Dimethoxypropan R** $C_5H_{12}O_2$  $M_r$  104,1

CAS 77-76-9

2,2-Dimethoxypropan

Bezbarvá kapalina, která se rozkládá působením vlhkého vzduchu nebo vodou.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,847. $n_D^{20}$ : asi 1,378.

TV: asi 83 °C.

**Dimethylacetamid R** $C_4H_9NO$  $M_r$  87,1

CAS 127-19-5

N,N-Dimethylacetamid

Obsahuje nejméně 99,5 %  $C_4H_9NO$ .

Bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou a s většinou organických rozpouštědel.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,94. $n_D^{20}$ : asi 1,437.

TV: asi 165 °C.

**Dimethylaminobenzaldehyd R** $C_9H_{11}NO$  $M_r$  149,2

CAS 100-10-7

4-Dimethylaminobenzaldehyd

Bílé nebo žlutobílé krystaly. Je dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných kyselinách.

TT: asi 74 °C.

**Dimethylaminobenzaldehyd RS1**

0,2 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**

0,2 g dimethylaminobenzaldehydu R se rozpustí bez zahřívání ve směsi 5,5 ml kyseliny chlorovodíkové R a 4,5 ml vody R.

Připravuje se v čas potřeby.

**Dimethylaminobenzaldehyd RS3**

0,25 g dimethylaminobenzaldehydu R se rozpustí ve směsi 45,0 ml kyseliny octové ledové R, 5,0 ml kyseliny fosforečné R a 45,0 ml vody R.

**Dimethylaminobenzaldehyd RS6**

0,125 g dimethylaminobenzaldehydu R se rozpustí v chlazené směsi 65 ml kyseliny sírové R a 35 ml vody R. Přidá se 0,1 ml roztoku chloridu železitého R (50 g/l). Před použitím se nechá stát 24 hodin, chráněn před světlem.

Při uchovávání při pokojové teplotě je použitelný jeden týden, při uchovávání v chladničce je možné jej používat po dobu několika měsíců.

**Dimethylaminobenzaldehyd RS7**

1,0 g dimethylaminobenzaldehydu R se rozpustí v 50 ml kyseliny chlorovodíkové R. K roztoku se přidá 50 ml lihu 96% R. Roztok se uchovává chráněn před světlem a je použitelný 4 týdny.

**Dimethylaminobenzaldehyd RS8**

Rozpustí se 0,25 g dimethylaminobenzaldehydu R ve směsi 5 g kyseliny fosforečné R, 45 g vody R a 50 g kyseliny octové bezvodé R. 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 uhličitě

Kapalina, nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

 $d_4^{17}$ : 1,065. $n_D^{20}$ : 1,368.

TV: asi 90 °C.

**N,N-Dimetyloktylamin 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-Dimetyloktadekanamid

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.

#### **2,4-Dimethyl-6-terc.butylfenol R**

$C_{12}H_{18}O$

$M_r$  178,3

CAS 1879-09-0

#### **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 sírové R* (14,0% (V/V)) předem zředěné s asi 250 ml *vody R* a zředí se *vodou R* na 500 ml.

Uchovává se chráněn před světlem.

#### **Dinatriumbicinchoninat R**

$C_{20}H_{10}N_2Na_2O_4$

$M_r$  388,3

CAS 979-88-4

Dinatrium-2,2'-dichinolin-4,4'-dikarboxylat

#### **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**

Roztok (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.

**Dinitrofenylhydraziniumsulfat RS**

1,5 g dinitrofenylhydrazinu R se rozpustí v 50 ml roztoku kyseliny sírové R 20% (V/V). Připraví se v čas potřeby.

**Dinonylftalat R**

$C_{26}H_{42}O_4$   $M_r$  418,6 CAS 28553-12-0

Bis(3,5,5-trimethylhexyl)ftalat

Bezbarvá až světle žlutá, viskózní kapalina.

$d_{20}^{20}$ : 0,97 až 0,98.

$n_D^{20}$ : 1,482 až 1,489.

Kyselé reagující látky. 5,0 g se třepe 1 min s 25 ml vody R. Po oddělení se vodná vrstva zfiltruje a přidá se k ní 0,1 ml fenolftaleinu RS. Ke změně zbarvení se spotřebuje nejvýše 0,3 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS (0,05 %, počítáno jako kyselina ftalová).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,1 %.

**Dioktadecylsulfid R**

$C_{36}H_{74}S_2$   $M_r$  571,1 CAS 1844-09-3

Bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě.

TT: 53 °C až 58 °C.

**Dioxan R**

$C_4H_8O_2$   $M_r$  88,1 CAS 123-91-1

1,4-Dioxan

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou a s většinou organických rozpouštědel.

$d_{20}^{20}$ : asi 1,03.

Teplota tuhnutí (2.2.18). 9 °C až 11 °C.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %.

Jestliže nevyhovuje zkoušce na peroxidy, nedestiluje se.

Peroxidy. 8 ml škrobu s jodidem draselným RS se převede do 12ml skleněného uzavíratelného válce o průměru 1,5 cm. Naplní se zkoušenou látkou, silně se protřepe a nechá se stát ve tmě 30 min. Nevznikne žádné zbarvení.

Při použití pro měření kapalínové 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*.

**Ditalimfos R**

$C_{12}H_{14}NO_4PS$

$M_r$  299,3

CAS 5131-24-8

O,O-Diethyl-(1,3-dihydro-1,3-dioxo-2*H*-isoindol-2-yl)fosfonothioat

Velmi těžce rozpustný ve vodě, v ethylacetatu a v ethanolu.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok v cyklohexanu.

**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-Difenylthiokarbazon

Modročerný, hnědočerný nebo černý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Dithizon RS**

Roztok v *chloroformu R* (0,5 g/l). 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 nechají oddělit a sleduje se chloroformová vrstva. Titruje se do modrozeleného zbarvení chloroformové vrstvy. Množství rtuti odpovídající zkoušenému roztoku ( $\mu g/ml$ ) se vypočítá ze vztahu  $20/V$ , v němž  $V$  značí při titraci spotřebovaný objem zkoušeného roztoku v mililitrech.

**Dithizon RI** $C_{13}H_{12}N_4S$  $M_r$  256,3

CAS 60-10-6

1,5-Difenylthiokarbazon

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

Bílé plátky. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v hexanu, těžce rozpustný v etheru.

TT: asi 69 °C.

*Nečistoty.* Nejvýše 0,1 % nečistot se stejnou hodnotou  $t_R$  jako  $\alpha$ -tokoferolacetat stanovených plynovou chromatografií za podmínek předepsaných v článku *Tocoferoli alfa acetat*.**Doxazosiniummesilat nečistota C R** $C_{10}H_{10}N_3O_2Cl$  $M_r$  239,55

2-Chlor-6,7-dimethoxy-4-chinazolinamin

Obsahuje nejméně 98,0 %  $C_{10}H_{10}N_3O_2Cl$ .

Bílý až světle žlutý prášek.

*Ztráta sušením* (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; suší se 3 h při 60 °C ve vakuu.**Dusičnan amonný R** $NH_4NO_3$  $M_r$  80,0

CAS 6484-52-2

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je hygroskopický, velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Dusičnan amonný RI** $NH_4NO_3$  $M_r$  80,0

CAS 6484-52-2

Vyhovuje požadavkům uvedeným pro *Dusičnan amonný R* a následujícím dodatečným požadavkům:*Kyselý reagující látky.* Roztok látky je nepatrně kyselý (2.2.4).*Chloridy* (2.4.4). 0,50 g vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100  $\mu$ g/g).*Sírany* (2.4.13). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce na sírany (150  $\mu$ g/g).*Síranový popel* (2.4.14). Nejvýše 0,05 %, stanoví se s 1,0 g.**Dusičnan ceritý R** $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$  $M_r$  434,3

CAS 10294-41-4

Bezbarvý až slabě žlutý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě a lihu 96%.

**Dusičnan draselný R** $KNO_3$  $M_r$  101,1

CAS 7757-79-1

Bezbarvé krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

**Dusičnan hlinitý R** $Al(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$  $M_r$  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.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**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**

Zásaditý dusičnan bismutý

 $4[\text{BiNO}_3(\text{OH})_2], \text{BiO}(\text{OH})$  $M_r$  1462

CAS 1304-85-4

Bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě.

**Dusičnan-oxid bismutitý RI**Obsahuje 71,5 % až 74,0 % bismutu (Bi) a 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 RI* se rozpustí ve směsi 8,4 ml *kyseliny dusičné R* a 50 ml *vody R* a zředí se jí na 250 ml. V případě nutnosti se zfiltruje.*Kysele reagující látky.* K 10 ml se přidá 0,05 ml *oranže methylové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje 5,0 ml až 6,25 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS*.

**Dusičnan-oxid zirkoničitý R**

CAS 14985-18-3

Dusičnan-oxid zirkoničitý je bazická sůl odpovídající přibližnému vzorci  $ZrO(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$ .

Bílý prášek nebo krystaly. Je hygroskopický, dobře rozpustný ve vodě. Vodný roztok je čirý nebo slabě opalizující.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Dusičnan-oxid zirkoničitý RS**

Roztok *dusičnan-oxidu zirkoničitého R* (1 g/l) ve směsi 40 ml *vody R* a 60 ml *kyseliny chlorovodíkové R*.

**Dusičnan rtuťnatý R** $Hg(NO_3)_2 \cdot H_2O$  $M_r$  342,6

CAS 7782-86-7

Bezbarvé nebo slabě zbarvené krystaly, hygroskopické, dobře rozpustné ve vodě za přítomnosti malého množství kyseliny dusičné.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

**Dusičnan sodný R** $NaNO_3$  $M_r$  85,0

CAS 7631-99-4

Bílý prášek, zrna nebo bezbarvé průsvitné krystaly roztékající se vzdušnou vlhkostí. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Dusičnan stříbrný R**

Viz článek *Argenti nitras*.

**Dusičnan stříbrný RS1**

Roztok 42,5 g/l.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Dusičnan stříbrný RS2**

Roztok 17 g/l.

Uchovává se chráněn před světlem.

**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** $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$  $M_r$  404

CAS 7782-61-8

Obsahuje nejméně 99,0 %  $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ .

Světle purpurově červené krystaly nebo krystalická hmota. Je velmi dobře rozpustný ve vodě.

*Volná kyselina*. Nejvýše 0,3 % (jako  $HNO_3$ ).

**Dusík R** $N_2$  $M_r$  28,01

CAS 7727-37-9

Promytý a vysušený dusík.

**Dusík RI**

Obsahuje nejméně 99,999 % N<sub>2</sub> (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**

Obsahuje nejméně 99,95 % N<sub>2</sub> (V/V).

**Dusík prostý kyslíku R**

Je to dusík R zbavený kyslíku probubláním přes *pyrogallol zásaditý RS*.

**Dusitan sodný R**

NaNO<sub>2</sub>

M<sub>r</sub> 69,0

CAS 7632-00-0

Obsahuje nejméně 97,0 % NaNO<sub>2</sub>.

Bílý zrnitý prášek 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<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>

M 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.

**α-Endosulfan R**

C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub>O<sub>3</sub>S

M<sub>r</sub> 406,9

CAS 959-98-8

TV: asi 200 °C.

TT: asi 108 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

***β-Endosulfan R***C<sub>9</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub>O<sub>3</sub>SM<sub>r</sub> 406,9

CAS 33213-65-9

TV: asi 390 °C.

TT: asi 207 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

***Endrin R***C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>6</sub>OM<sub>r</sub> 380,9

72-20-8

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

***Erukamid R***C<sub>22</sub>H<sub>43</sub>NOM<sub>r</sub> 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.

***Erytritrol R***C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub>M<sub>r</sub> 122,1

CAS 149-32-6

(R\*,S\*)-Butan-1,2,3,4-tetrol; *meso*-erytritrol

Tetragonální hranoly, velmi dobře rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v pyridinu, těžce rozpustné v lihu 96%.

TT: asi 121,5 °C.

***Erytrocyty králičí suspenze R***

Připraví se suspenze králičích erytrocytů 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>. Erytrocyty 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 druhu *Aesculus hippocastanum* L.

Jemný téměř bílý nebo slabě načervenalý či nažloutlý amorfní 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<sub>F</sub> asi 0,4.

***Eskulin R***C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>9</sub> · 1½ H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 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<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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.

**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.

**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.

**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 12 ml 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 nekalí při 0 °C.

### ***Ether petrolejový R2***

Vyhovuje požadavkům předepsaným v odstavci *Ether petrolejový R* a následujícím požadavkům:

$d_{20}^{20}$ : 0,620 až 0,630.

*Destilační rozmezí (2.2.11)*: 30 °C až 40 °C.

Kapalina se nekalí při 0 °C.

### ***Ether petrolejový R3***

Ether petrolejový 40 °C až 80 °C. Vyhovuje požadavkům předepsaným v odstavci *Ether petrolejový R* a následujícími požadavkům:

$d_{20}^{20}$ : 0,659 až 0,671.

*Destilační rozmezí (2.2.11)*: 40 °C až 80 °C.

### ***Ethion R***

$C_9H_{22}O_4P_2S_4$

$M_r$  384,5

CAS 563-12-2

TT: -24 °C až -25 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

### ***Ethoxychrysoidiniumchlorid R***

$C_{14}H_{17}ClN_4O$

$M_r$  292,8

CAS 2313-87-3

4-[(4-Ethoxy)fenylazo]-1,3-benzendiildiaminmonohydrochlorid

Načervenalý prášek, dobře rozpustný v lihu 96%.

**Ethoxychrysoidinchlorid RS**

Roztok v lihu 96% R (1,0 g/l).

*Zkouška citlivosti.* Ke směsi 5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 0,05 ml *ethoxychrysoidinchloridu 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** $M_r$  60,1

CAS 107-15-3

1,2-Diaminoethan

Čirá bezbarvá dýmající kapalina, silně alkalická, mísitelná s vodou a s lihem 96%, těžce rozpustná v etheru.

TV: asi 116 °C.

**Ethylenglykol R** $M_r$  62,1

CAS 107-21-1

1,2-Ethandiol

Bezbarvá viskózní hygroskopická kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%, těžce rozpustná v etheru.

$d_{20}^{20}$ : 1,113 až 1,115.

$n_D^{20}$ : asi 1,432.

TT: asi -12 °C.

TV: asi 198 °C.

*Kyselé reagující látky.* K 10 ml se přidá 20 ml vody R a 1 ml *fenolftaleínu 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** $M_r$  44,05

CAS 75-21-8

Oxiran

Bezbarvý hořlavý plyn, velmi dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Teplota zkvalnění: 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 polyethylenovými ochrannými rukavicemi a vhodnou obličejovou ochrannou maskou.*

*Všechny roztoky se uchovávají ve vzduchotěsných obalech v chladničce při 4 °C až 8 °C. Všechna stanovení se provádějí třikrát.*

Do suché čisté zkumavky chlazené ve směsi 1 dílu *chloridu sodného R* a 3 dílů rozdrceného ledu se zavádí pomalý proud plynného *ethylenoxidu R* a nechá se kondenzovat na vnitřní stěně zkumavky. Za použití skleněné injekční stříkačky, předtím zchlazené na -10 °C, se vstříkne asi 300 µl (odpovídá asi 0,25 g) kapalného *ethylenoxidu R* do 50 ml *makrogolu 200 R1*. Absorbované množství ethylenoxidu se stanoví vážením před a po absorpci ( $M_{EO}$ ). Zředí se *makrogolem 200 R1* na 100,0 ml. Před použitím se dobře promíchá.

*Stanovení obsahu.* K 10 ml suspenze *chloridu hořečnatého R* (500 g/l) v *ethanolu R* v baňce se přidá 20,0 ml *kyseliny chlorovodíkové v lihu 0,1 mol/l VS*. Zazátkuje se a protřepe se k získání nasyceného roztoku a nechá se stát přes noc k ustavení rovnováhy. 5,00 g *ethylenoxidu základního RS* (2,5 g/l) se odváží do baňky a nechá se 30 min stát. Titruje se *hydroxidem draselným v lihu 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

Provede se slepá zkouška, při níž se zkoušená látka nahradí stejným množstvím *makrogolu 200 R1*.

Obsah ethylenoxidu v mg/g se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{(V_0 - V_1) \cdot f \cdot 4,404}{m},$$

v němž značí:

$V_0$  a  $V_1$  - objemy spotřeby hydroxidu draselného v lihu 0,1 mol/l VS při slepé zkoušce a titraci v mililitrech,

$f$  - faktor hydroxidu draselného v lihu 0,1 mol/l VS,

$m$  - hmotnost vzorku v gramech.

#### **Ethylenoxid RS**

Množství vychlazeného ethylenoxidu základního RS odpovídající 2,5 mg ethylenoxidu se naváží do vychlazené baňky a zředí se makrogolem 200 R1 na 50,0 g. Dobře se promíchá a 2,5 g tohoto roztoku se zředí makrogolem 200 R1 na 25,0 ml (5 µg ethylenoxidu v gramu roztoku). 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.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek předepsaných v článku *Caryophylli etheroleum*; jako zkoušený roztok se použije zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy píků.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Euglobuliny hovězí R**Pro přípravu se použije čerstvá hovězí krev odebraná do protisrážlivého roztoku (například roztoku citronanu sodného). Nepoužije se hemolyzovaná krev. Odstředuje 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 odstředuje 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 za míchání se přidá supernatantní tekutina získaná z plazmy. Vznikne bílá sraženina, která se nechá stát 10 h až 15 h při 4 °C. Čirá supernatantní tekutina se odstraní odsáním, sraženina se oddělí odstředováním při 4 °C a mechanicky se disperguje v 500 ml *vody destilované R* při 4 °C. Směs se 5 min protřepává a sraženina se oddělí odstředováním při 4 °C. Sraženina se mechanicky disperguje v 60 ml roztoku obsahujícího *chlorid sodný R* (9 g/l) a *citro-*

*nan 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 vlákn. Tento čas nepřevyšuje 15 min.

Uchovávají se chráněny před vlhkostí při 4 °C a jsou použitelné 1 rok.

### **Euglobuliny lidské R**

Pro přípravu se použije čerstvá lidská krev odebraná do protisrážlivého roztoku (např. roztok citronanu sodného) nebo lidská krev pro transfuzi, která právě dosáhla konce doby použitelnosti a uchovává se v plastových krevních obalech. Nepoužije se hemolyzovaná krev. Odstředí se při 1500 g<sub>n</sub> až 1800 g<sub>n</sub> 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. Odstředí se při nejméně 15 000 g<sub>n</sub> 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 vlákn. Tento čas nepřevyšuje 15 min.

Uchovávají se ve vzduchotěsných obalech při 4 °C a jsou použitelné 1 rok.

### **Faktor koagulační V RS**

Faktor koagulační V se může připravit následujícím postupem nebo jiným postupem, který vylučuje faktor VIII. Připraví se z čerstvé šřavelanové hovězí plazmy frakcionací při 4 °C 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 g/l) tak, aby vznikl roztok obsahující 10 % až 20 % množství faktoru V, přítomného v normální čerstvé lidské plazmě.

**Stanovení obsahu.** Připraví se dvě ředění koagulačního faktoru V v *tlumivém roztoku imidazolovém o pH 7,3*. První ředění v poměru objemových dílů 1 : 10 a druhé ředění v poměru objemových dílů 1 : 20. Obě ředění se zkouší takto: 0,1 ml *plazmy substrátu prosté faktoru V RS*, 0,1 ml zkoušeného roztoku, 0,1 ml *zkoumadla tromboplastinového R* a 0,1 ml roztoku *chloridu vápenatého R* (3,5 g/l) se smíchají a měří se koagulační čas, tj. čas mezi přidáním roztoku chloridu vápenatého a první známkou tvorby fibrinu, kterou lze pozorovat vizuálně nebo pomocí vhodného přístroje.

Stejným způsobem se stanoví koagulační čas (dvojmo) čtyř ředění (V/V) normální lidské plazmy v *tlumivém roztoku imidazolovém o pH 7,3* obsahující: 1 : 10 objemových dílů (odpovídá 100 % faktoru V), 1 : 50 objemových dílů (odpovídá 20 % faktoru V), 1 : 100 objemových dílů (odpovídá 10 % faktoru V) a 1 : 1000 objemových dílů (odpovídá 1 % faktoru V). Průměrné koagulační časy každého ředění lidské plazmy se vyznačí na logaritmickém papíru proti

odpovídajícímu procentu faktoru V a interpolací se zjistí procenta koagulačního faktoru V pro dvě ředění sledovaného roztoku. Průměrná hodnota z těchto dvou výsledků udává procenta faktoru V ve zkoušeném roztoku.

Roztok se uchovává ve zmrzlém stavu při teplotě, která není vyšší než  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### **Faktor koagulační Xa hovězí R**

CAS 9002-05-5

Je to enzym, který přeměňuje protrombin na trombin. Částečně přečištěný přípravek se získává z tekuté hovězí plazmy a může se připravit aktivací inaktivního enzymu faktoru X vhodným aktivátorem, jako je jed Russelovy zmije.

Lyofylozovaný přípravek se uchovává při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  a zmrazený roztok při teplotě nižší než  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### **Faktor koagulační Xa hovězí RS**

Rozpustí se podle návodu výrobce a zředí se *tlumivým roztokem trometamolovým o pH 7,4*. Jakákoliv změna absorbance roztoku, měřená při 405 nm (2.2.25) proti stejnému tlumivému roztoku jako kontrolní kapalině, je nejvýše 0,15 až 0,20 za min.

#### **Fehlingův roztok R**

Viz odstavec *Vínan měďnatý RS*.

#### **$\alpha$ -Fellandren R**

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$

$M_r$  136,2

CAS 4221-98-1

(*R*)-5-Isopropyl-2-methyl-cyklohexa-1,3-dien; (*-*)-*p*-mentha-1,5-dien

$d_{20}^{20}$ : asi 0,839.

$n_D^{20}$ : asi 1,471.

$[\alpha]_D^{20}$ : asi  $-217^{\circ}$ .

TV: 171  $^{\circ}\text{C}$  až 174  $^{\circ}\text{C}$ .

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Eucalypti etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy píků.

#### **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  $^{\circ}\text{C}$ .

#### **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 prášek, snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 215  $^{\circ}\text{C}$ , za rozkladu.

#### **Fenazon R**

Viz článek *Phenazonum*.

#### **Fenchlorfos R**

$\text{C}_8\text{H}_8\text{Cl}_3\text{O}_3\text{PS}$

$M_r$  321,5

CAS 299-84-3

TT: asi 35  $^{\circ}\text{C}$ .

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/ $\mu\text{l}$  v cyklohexanu).

**Fenchon R** $C_{10}H_{16}O$  $M_r$  152,2

CAS 7787-20-4

1,3,3-Trimethylbicyklo[2,2,1]heptan-2-on

Olejovitá kapalina, mísitelná s lihem 96% a s etherem, prakticky nerozpustná ve vodě.

 $n_D^{20}$ : asi 1,46. $TV_{15\text{ mm}}$ : asi 66 °C.*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:**Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Foeniculi amari fructus* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy píků.

**Fenolftalein R** $C_{20}H_{14}O_4$  $M_r$  318,3

CAS 77-09-8

3,3'-Bis(4-hydroxyfenyl)ftalid

Bílý až 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 RSI**

Roztok v lihu 96% R (10 g/l).

**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 vatou. 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.



**Fenvalerat R** $C_{25}H_{22}ClNO_3$  $M_r$  419,9

CAS 51630-58-1

TV: asi 300 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**Fenylalanin R**Viz článek *Phenylalaninum*.**p-Fenylendiamoniumdichlorid R** $C_6H_{10}Cl_2N_2$  $M_r$  181,1

CAS 615-28-1

Krystalický prášek nebo bílé nebo slabě zbarvené krystaly, červenající působením vzduchu, snadno rozpustné ve vodě, těžce rozpustné v lihu 96% a v etheru.

**α-Fenylglycin R** $C_8H_9NO_2$  $M_r$  151,2

CAS 2835-06-5

Kyselina (*RS*)-2-amino-2-fenylctová**Fenylhydrazin v kyselině sírové RS**65 mg *fenylhydraziniumchloridu R* předem překrystalizovaného v roztoku *lihu R* 85% (V/V) se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *kyseliny sírové R* (80 + 170) a zředí se stejnou směsí na 100 ml. Připravuje se v čas potřeby.**Fenylhydraziniumchlorid R** $C_6H_9ClN_2$  $M_r$  144,6

CAS 59-88-1

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, na vzduchu hnědne, dobře rozpustný ve vodě a lihu 96%.

TT: asi 245 °C, za rozkladu.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Fenylhydraziniumchlorid RS**0,9 g *fenylhydraziniumchloridu R* se rozpustí v 50 ml *vody R*. Roztok se odbarví *aktivním uhlím R* a zfiltruje se. K filtrátu se přidá 30 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zředí se *vodou R* na 250 ml.**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.

**4-Fenyl-1-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin R** $C_{12}H_{15}N$  $M_r$  173,3

CAS 28289-54-5

MPTP

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě.

TT: asi 41 °C.

***1-Fenylpiperazin R*** $C_{10}H_{14}N_2$  $M_r$  162,2

CAS 92-54-6

Slabě viskózní žlutá tekutina, nemísitelná s vodou.

 $d_4^{20}$ : asi 1,07. $n_D^{20}$ : asi 1,588.***Ferocypfen R*** $C_{26}H_{16}FeN_6$  $M_r$  468,3

CAS 14768-11-7

Železnatý komplex dikyanobis(1,10-fenanthrolinu)

Fialové broncový 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 ferroinu. Po přidání 0,1 ml hexanitratoceričitánu 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-benzentriolu

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: 109 °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.

**Fluoren R**

$C_{13}H_{10}$   $M_r$  166,2 CAS 86-73-7  
Difenylmethan

Bílé krystaly. Je snadno rozpustný v kyselině octové bezvodé, dobře rozpustný v horkém lihu 96%.

TT: 113 °C až 115 °C.

**Fosalon R**

$C_{12}H_{15}ClNO_4PS_2$   $M_r$  367,8 CAS 2310-17-0

TT: 45 °C až 48 °C

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v trimethylpentanu).

**Fluorescein R**

$C_{20}H_{12}O_5$   $M_r$  332,3 CAS 2321-07-5  
3',6'-Dihydroxyspiro[isobenzofuran-1(3H),9'-[9H]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-3H-xanthen-9-yl)benzoat

Červenooranžový prášek, 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**

$C_6H_{11}FO_5$   $M_r$  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 2*V* směsí dvou objemových dílů *etheru petrolejového R2* a tři 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 0,2*V etheru R* a roztok se nechá stát při 4 °C až vznikne sraženina. Po odstředování se čirá supernatantní kapalina odpaří ve vakuu až na objem 100 ml z každého původně naváženého kilogramu homogenizátu a zváží se. Roztok se nechá stát při 4 °C (12 h až 24 h), až vznikne sraženina. Po odstředování se čirá supernatantní kapalina smíchá s pětinásobným množstvím *acetonu R*, odstředí se, supernatantní kapalina se odstraní a sraženina se vysuší.

Uchovává se ve vakuu v exsikatoru, 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 nebo bílé 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 vločky.

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 ethanolu, 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(methyleniminodioctová) hydrát

Žlutobílý až nahnědlý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%. Vyrábí se také ve formě sodné soli: žlutobílý až růžový prášek, dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

*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**

CAS 632-99-5

Je to směs rosaniliniumchloridu (C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>3</sub>, *M<sub>r</sub>* 337,9, Colour Index 42510, Schultz 780) a *para*-rosaniliniumchloridu (C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>, *M<sub>r</sub>* 323,8, Colour Index 42500, Schultz 779).

V případě nutnosti se čistí tímto způsobem: 1 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 předeštěného k varu, přidá se 300 ml vody R 80 °C teplé a ochladí se na pokojovou teplotu, zfiltruje se a krystaly se vysuší ve vakuu.

Krystaly se zelenobronzovým leskem. Dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Uchovává se chráněn před světlem.

#### **Fuchsin RS**

Schiffův roztok

0,1 g fuchsinu zásaditého R se rozpustí v 60 ml vody R. Přidá se roztok obsahující 1 g siřičitanu sodného bezvodého R nebo 2 g siřičitanu sodného R v 10 ml vody R. Pomalu se za třepání přidají 2 ml kyseliny chlorovodíkové R a zředí se vodou R se na 100 ml. Nejméně 12 h se nechá stát chráněn před světlem. Roztok se odbarví přidáním aktivního uhlí R a zfiltruje. Jestliže je roztok zakalený, před použitím se zfiltruje. V případě, že se při skladování roztok fialově zbarví, odstraní se toto zbarvení aktivním uhlím R.

*Zkouška citlivosti.* K 1,0 ml se přidá 1,0 ml vody R a 0,1 ml lihu 96% prostého aldehydů R. Přidají se 0,2 ml roztoku obsahujícího 0,1 g/l formaldehydu (CH<sub>2</sub>O; *M<sub>r</sub>* 30,02). Během 5 min se ve směsi objeví slabě růžové zbarvení.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Fuchsin RSI**

K 1 g *fuchsinu zásaditého R* se přidá 100 ml *vody R*. Zahřeje se na 50 °C, pak při chladnutí se občas protřepe. Před použitím se nechá stát 48 h, protřepe se a pak se zfiltruje. Ke 4 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**

$C_6H_{12}O_5$   $M_r$  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 g/l) 24 h po přípravě.

TT: asi 140 °C.

**Furfural R**

$C_5H_4O_2$   $M_r$  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 % predestiluje při 159 °C až 163 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Galaktosa R**

$C_6H_{12}O_6$   $M_r$  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 %  $NH_3$ .

**Geraniol R**

$C_{10}H_{18}O$   $M_r$  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**

$C_{12}H_{20}O_2$   $M_r$  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 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.

**Ginsenosid Rb1 R**C<sub>54</sub>H<sub>92</sub>O<sub>23</sub> · 3H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 1163

CAS 41753-43-9

(20S)-3β-di-D-Glukopyranosyl-20-di-D-glukopyranosylprotopanaxadiol, (20S)-3β-[(2-O-β-D-glukopyranosyl-β-D-glukopyranosyl)oxy]-20-[(6-O-β-D-glukopyranosyl-β-D-glukopyranosyl)oxy]-5α-dammar-24-en-12β-ol, (20S)-3β-[(2-O-β-D-glukopyranosyl-β-D-glukopyranosyl)oxy]-20-[(6-O-β-D-glukopyranosyl-β-D-glukopyranosyl)oxy]-4,4,8,14-tetramethyl-18-nor-5α-cholest-24-en-12β-ol

Bezbarvá pevná látka. Je dobře rozpustný ve vodě, v ethanolu a v methanolu.

$[\alpha]_D^{20}$ : +11,3°; měří se roztok v *methanolu R* (10 g/l).

TT: asi 199 °C.

Voda (2.5.12). Nejvýše 6,8 %.

Stanovení obsahu. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za podmínek uvedených v článku *Ginseng radix*.

Zkoušený roztok. 3,0 mg přesně zváženého *ginsenosidu Rb1* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*.

Obsahuje nejméně 95,0 %, počítáno metodou normalizace.

**Ginsenosid Rg1 R**C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub> · 2H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 837

CAS 22427-39-0

(20S)-6β-D-Glukopyranosyl-D-glukopyranosylprotopanaxatriol, (20S)-6α,20-bis(β-D-glukopyranosyloxy)-5α-dammar-24-en-3β,12β-diol; (20S)-6α,20-bis(β-D-glukopyranosyloxy)-4,4,8,14-tetramethyl-18-nor-5α-cholest-24-en-3β,12β-diol

Bezbarvá pevná látka. Je dobře rozpustný ve vodě, v ethanolu a v methanolu.

$[\alpha]_D^{20}$ : +31,2°; měří se roztok v *methanolu R* (10 g/l).

TT: 188 °C až 191 °C.

Voda (2.5.12). Nejvýše 4,8 %.

Stanovení obsahu. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za podmínek uvedených v článku *Ginseng radix*.

Zkoušený roztok. 3,0 mg přesně zváženého *ginsenosidu Rg1* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*.

Obsahuje nejméně 95,0 %, počítáno metodou normalizace.

**Ginsenosid Rf R**C<sub>42</sub>H<sub>72</sub>O<sub>14</sub> · 2H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 837

CAS 52286-58-5

(20S)-6-O-[β-D-Glukopyranosyl-(1→2)-β-D-glykopyranosid]-dammar-24-en-3β,6α,12β,20-tetrol

Bezbarvá pevná látka. Je dobře rozpustný ve vodě, v ethanolu a v methanolu.

$[\alpha]_D^{20}$ : +12,8°; měří se roztok (10 g/l) v *methanolu R*.

TT: asi 198 °C.

**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** $C_6H_{14}ClNO_5$  $M_r$  215,6

CAS 66-84-2

D-Glukosamoniumchlorid

Krystaly, dobře rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v etheru.

 $[\alpha]_D^{20}$ : +100°, po 30 min se snižuje na +47,5°; měří se roztok (100 g/l) ve vodě R.**Glukosa R**Viz článek *Glucosum*.**Glutaraldehyd R** $C_5H_8O_2$  $M_r$  100,1

CAS 111-30-8

Olejovitá kapalina, dobře rozpustná ve vodě.

 $n_D^{25}$ : asi 1,434.

TV: asi 188 °C.

**Glycerol 85% R**Viz článek *Glycerolum 85%*.**Glycerol R**Viz článek *Glycerolum*.**Glycidol R** $C_3H_6O_2$  $M_r$  74,1

CAS 556-52-5

Těžká viskózní kapalina mísitelná s vodou.

 $d_4^{20}$ : asi 1,115. $n_D^{20}$ : asi 1,432.**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. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 29,02 mg glyoxalu ( $C_2H_2O_2$ ).**Glyoxalbishydroxyanil R** $C_{14}H_{12}N_2O_2$  $M_r$  240,3

CAS 1149-16-2

Glyoxal-bis(2-hydroxyanil)

Bílé krystaly, dobře rozpustné v horkém lihu 96%.

TT: asi 200 °C.

**Gonadotropin choriový R**Viz článek *Gonadotropinum chorionicum*.



**Gonadotropin sérum R**

Viz článek *Gonadotropinum sericum equinum a.u.v.*

**Guajakolová pryskyřice R**

Pryskyřice se získává ze dřeva *Guajacum officinale* L. a *Guajacum sanctum* L.  
Načervenalé hnědé nebo nazelenalé hnědé tvrdé sklovité 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 amorfni 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 %.

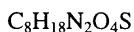
**Hemoglobin RS**

2 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 thiomersalu R. Přípravuje 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.

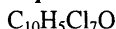
**Heptachlor R** $M_r$  373,3

CAS 76-44-8

TV: asi 135 °C.

TT: asi 95 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**Heptachlorepoxid R** $M_r$  389,3

CAS 1024-57-3

TV: asi 200 °C.

TT: asi 160 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**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.

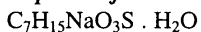
$n_D^{20}$ : 1,387 až 1,388.

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** $M_r$  220,3

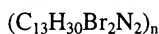
Počítáno na bezvodou látku, obsahuje nejméně 96 % sloučeniny  $C_7H_{15}NaO_3S$ .

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v ethanolu, prakticky nerozpustný v etheru.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 8 %, 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 prášek hygroskopický, dobře rozpustný ve vodě.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Hexahydroxoantimoničnan draselný R**K[Sb(OH)<sub>6</sub>] $M_r$  262,9

CAS 12208-13-8

Bílý krystalický prášek nebo bílé krystaly, je mírně rozpustný ve vodě.

**Hexahydroxoantimoničnan draselný RS**

2 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.

**Hexachlorbenzen R**C<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub> $M_r$  284,8

CAS 118-74-1

TV: asi 332 °C.

TT: asi 230 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**α-Hexachlorcyklohexan R**C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub> $M_r$  290,8

CAS 319-84-6

TV: asi 288 °C.

TT: asi 158 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**β-Hexachlorcyklohexan R**C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub> $M_r$  290,8

CAS 319-85-7

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**δ-Hexachlorcyklohexan R**C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>6</sub> $M_r$  290,8

CAS 319-86-8

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**Hexakosan R**C<sub>26</sub>H<sub>54</sub> $M_r$  366,7

CAS 630-01-3

Bezbarvé nebo bílé vločky.

TT: asi 57 °C.

**Hexakynoželezitan draselný R**K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] $M_r$  329,3

CAS 13746-66-2

Červené krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

**Hexakynoželezitan draselný RS**

5 g hexakynoželezitanu draselného R se propláchne malým množstvím vody R, potom se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml. Připravuje se v čas potřeby.

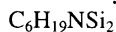
**Hexakynoželeznatan draselný R**K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] · 3H<sub>2</sub>O $M_r$  422,4

CAS 14459-95-1

Žluté průhledné krystaly, snadno rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

**Hexakynoželeznatan draselný RS**

Roztok 53 g/l.

**Hexamethyldisilazan R** $M_r$  161,4

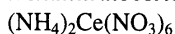
CAS 999-97-3

Čirá bezbarvá kapalina.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,78. $n_D^{20}$ : asi 1,408.

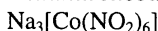
TV: asi 125 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Hexamethylentetramin R**Viz odstavec *Methenamin R*.**Hexanitratoceričitan amonný R** $M_r$  548,2

CAS 16774-21-3

Oranžově žlutý krystalický prášek nebo oranžové průsvitné krystaly, dobře rozpustné ve vodě.

**Hexanitrokobaltitan sodný R** $M_r$  403,9

CAS 13600-98-1

Oranžově žlutý prášek, snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

**Hexanitrokobaltitan sodný RS**

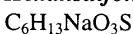
Roztok 100 g/l. Připravuje se v čas potřeby.

**Hexan R** $M_r$  86,2

CAS 110-54-3

*n*-Hexan

Bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a s etherem.

 $d_{20}^{20}$ : 0,659 až 0,663. $n_D^{20}$ : 1,375 až 1,376.*Destilační rozmezí (2.2.11)*. Nejméně 95 % předestiluje při 67 °C až 69 °C.*Při použití pro spektrofotometrii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:**Transmittance (2.2.25)*: nejméně 97 % při 260 nm až 420 nm; měří se proti *vodě R* jako kontrolní kapalině.**Hexansulfonan sodný R** $M_r$  188,2

CAS 2832-45-3

Bílý nebo téměř bílý prášek, snadno rozpustný ve vodě.

**Hexylamin R** $M_r$  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/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.

**Hliník R**

Al

$A_r$  26,98

CAS 7429-90-5

Bílý kujný ohebný modravý kov, dostupný jako tyčinky, fólie, prášek, pásky nebo drát. Na vlhém vzduchu se pokrývá tenkou vrstvou oxidu, který chrání kov před korozi.

Jakost p.a.

**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 nebo 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 reaguje zásaditě 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**

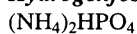
$C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1,5H_2O$

$M_r$  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** $M_r$  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).

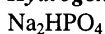
Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Hydrogenfosforečnan draselný R** $M_r$  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** $M_r$  142,0

CAS 7558-79-4

Bílý hygroskopický prášek.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Hydrogenfosforečnan sodný dihydrát R**

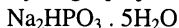
Viz článek *Natrii hydrogenophosphas dihydricus*.

**Hydrogenfosforečnan sodný R**

Viz článek *Natrii hydrogenophosphas dodecahydricus*.

**Hydrogenfosforečnan sodný RS**

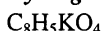
Roztok 90 g/l.

**Hydrogenfosforitan sodný pentahydrát R** $M_r$  216,0

CAS 13517-23-2

Bílý krystalický hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Hydrogenftalan draselný R** $M_r$  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  $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$  se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

**Hydrogensíran draselný R** $M_r$  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.

**Hydrogensíran sodný R** $M_r$  120,1

CAS 7681-38-1

Je snadno rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný ve vroucí vodě, v lihu 96% se rozkládá na síran sodný a volnou kyselinu sírovou.

TT: asi 315 °C.

**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.

**Hydrogenuhlíčitan 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>.

**Hydrogenuhlíčitan 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%.

**Hydrogenuhlíčitan draselný nasycený v methanolu RS**

0,1 g *hydrogenuhlíčitanu draselného R* se rozpustí zahříváním na vodní lázni v 0,4 ml *vody R*. Přidá se 25 ml *methanolu R* a míchá se na vodní lázni do úplného rozpuštění látky. Používá se čerstvě připravený roztok.

**Hydrogenuhlíčitan sodný R**

Viz článek *Natrii hydrogenocarbonas*.

**Hydrogenuhlíčitan sodný RS**

Roztok 42 g/l.

**Hydrogenvinan 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, prakticky nerozpustný 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 acetas*.

**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.

**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 *hydroxidu draselného R* se rozpustí v 10 ml *vody R* a zředí se *lihem 96% R* na 100 ml.

**Hydroxid draselný v lihu RS**

3 g *hydroxidu draselného R* se rozpustí v 5 ml *vody R* a zředí se *lihem 96% prostým aldehydů R* na 100 ml. Dekantuje se čirý roztok. Roztok je téměř bezbarvý.

**Hydroxid draselný v lihu RS1**

6,6 g *hydroxidu draselného R* se rozpustí v 50 ml *vody R* a zředí se *lihem 96% R* na 1000 ml.

**Hydroxid draselný v lihu 0,5 mol/l RS**

28 g *hydroxidu draselného R* se rozpustí ve 100 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml.

**Hydroxid lithný R**

LiOH · 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 *hydroxidu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

**Hydroxid sodný RS**

20,0 g *hydroxidu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. Obsah se ověří titrací *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS* za použití *oranže methylové RS* jako indikátoru a v případě potřeby se upraví na 200 g/l.

**Hydroxid sodný zředěný RS**

8,5 g *hydroxidu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

**Hydroxid sodný 4 mol/l RS**

16,0 g *hydroxidu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

**Hydroxid sodný v methanolu RS**

40 mg *hydroxidu sodného R* se rozpustí v 50 ml *vody R*. Ochladí se a přidá se 50 ml *methanolu R*.

**Hydroxid sodný v methanolu RS1**

200 mg *hydroxidu sodného R* se rozpustí v 50 ml *vody R*. Ochladí se a přidá se 50 ml *methanolu R*.

**Hydroxid tetraaminměďnatý RS**

34,5 g *síranu měďnatého R* se rozpustí ve 100 ml *vody R* a za míchání se přidává po kapkách *amoniak 26% R*, dokud se vzniklá sraženina opět nerozpustí. Teplota se udržuje pod 20 °C a po kapkách se přidává za stálého míchání 30 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*. Sraženina se filtruje přes filtr ze slinutého skla (40), promývá se *vodou R*, až je filtrát čirý, a potom se ke sraženině přidá 200 ml *amoniaku 26% R*. Znovu vzniklá sraženina se filtruje přes filtr ze slinutého skla a filtrace se opakuje pokud možno do rozpuštění.



**Hydroxid vápenatý R**

$\text{Ca(OH)}_2$   $M_r$  74,1 CAS 1305-62-0  
Bílý prášek, téměř zcela rozpustný v 600 dílech vody.

**Hydroxid vápenatý RS**

Čerstvě připravený nasycený roztok.

**Hydroxychinolin R**

$\text{C}_9\text{H}_7\text{NO}$   $M_r$  145,2 CAS 148-24-3  
8-Hydroxychinolin

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, v lihu 96% a ve zředěných minerálních kyselinách.

TT: asi 75 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,05 %.

**Hydroxylamoniumchlorid R**

$\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$   $M_r$  69,5 CAS 5470-11-1  
Bílý krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

**Hydroxylamoniumchlorid RS2**

2,5 g hydroxylamoniumchloridu R se rozpustí ve 4,5 ml horké vody R a přidá se 40 ml lihu 96% R a 0,4 ml modři 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 oranže methylové sodné soli R (2 g/l) v lihu R 60% (V/V) a dostatečné množství hydroxidu draselného 0,5 mol/l v lihu 60% (V/V) RS, aby vzniklo čistě žluté zbarvení. Zředí se roztokem lihu R 60% (V/V) na 100 ml.

**Hydroxylamoniumchlorid v lihu RS1**

5,0 g hydroxylamoniumchloridu R se rozpustí ve 100ml odměrné baňce v 10,0 ml vody R a přidá se 70,0 ml lihu 96% R, 10,0 ml modři 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**

$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$   $M_r$  126,1 CAS 67-47-0  
5-Hydroxymethylfurfural; 5-hydroxymethyl-2-furalaldehyd

Jehličkovité krystaly, snadno rozpustné ve vodě, v acetonu a v lihu 96%, dobře rozpustné v etheru.

TT: asi 32 °C.

**Hydroxypropyl- $\beta$ -cyklodextrin R** $[C_6H_{10-x}O_5(C_3H_7O)_x]_7$ , $M_r$  1371 až 1432

CAS 94035-02-6

x = molekulární substituční stupeň

(podle stupně molární substituce)

Bílý až téměř bílý prášek.

Hodnota pH (2.2.3): 5,0 až 7,5; měří se roztok 20 g/l.

**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

1H-Purin-6-on

Bílý krystalický prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný ve vroucí vodě, dobře rozpustný ve zředěných kyselinách a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů. Rozkládá se bez tání při asi 150 °C.

*Chromatografie*. Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Mercaptopurinum*. Na získaném chromatogramu je pouze jedna hlavní skvrna.**Chinhydron R** $C_{12}H_{10}O_4$  $M_r$  218,2

CAS 106-34-3

Je to ekvimolární sloučenina 1,4-benzochinonu a 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)[(2R,4S,5R)-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-chinolyl)[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-vinyl-2-chinuklidinyl]methanol

Bílý mikrokrystalický prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě, těžce rozpustný ve vroucí vodě, velmi snadno rozpustný v ethanolu, dobře rozpustný v etheru.

 $[\alpha]_D^{20}$  : asi  $-167^\circ$ ; měří se roztok (10 g/l) v *ethanolu R*.TT: asi  $175^\circ\text{C}$ .

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  $178^\circ\text{C}$ .**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  $71^\circ\text{C}$ .**4-Chlorbenzensulfonamid R** $C_6H_6ClNO_2S$  $M_r$  191,6

CAS 98-64-6

Bílý prášek.

TT: asi  $145^\circ\text{C}$ .**Chlorbutanol R**Viz článek *Chlorobutanolum*.

**Chlordan R** $C_{10}H_6Cl_8$  $M_r$  409,8

CAS 12789-03-6

TV: asi 175 °C.

TT: asi 106 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v trimethylpentanu) technické jakosti.

**Chlordiazepoxid R**Viz článek *Chlordiazepoxidum*.**2-Chlor-6,7-dimethoxy-4-chinazolinyamin R** $C_{10}H_{10}ClN_3O_2$  $M_r$  239,7

Bílá až nažloutlá krystalická látka.

**Chlorečnan draselný R** $KClO_3$  $M_r$  122,6

CAS 3811-04-9

Bílý prášek, krystaly nebo zrna. Je dobře rozpustný ve vodě.

**2-Chlorethanol R** $C_2H_5ClO$  $M_r$  80,5

CAS 107-07-3

Bezbarvá kapalina, dobře rozpustná v lihu 96%.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,197. $n_D^{20}$ : asi 1,442.

TV: asi 130 °C.

TT: asi -89 °C.

**2-Chlorethanol RS**125 mg *2-chlorethanolu R* se rozpustí v *2-propanolu R* a zředí se jím na 50 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí *2-propanolem R* na 50 ml.**2-Chlorethylamoniumchlorid R** $C_2H_7Cl_2N$  $M_r$  116,0

CAS 870-24-6

TT: asi 145 C.

**(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.

**Chlorfeninfos R** $C_{12}H_{14}Cl_3O_4P$  $M_r$  359,6

CAS 470-90-6

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**Chlorid amonný R**

Viz článek *Ammonii chloridum*.

**Chlorid amonný RS**

Roztok 107 g/l.

**Chlorid antimonitý R**

SbCl<sub>3</sub>

*M<sub>r</sub>* 228,1

CAS 10025-91-9

Bezbarvé krystaly nebo průsvitná krystalická hmota. Je hygroskopický, snadno rozpustný v ethanolu. Látka je vodou hydrolyzována.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před vlhkostí.

**Chlorid antimonitý RS**

30 g *chloridu antimonitého R* se rychle dvakrát opláchne 15 ml *chloroformu prostého ethanolu R*, promývací kapalina se dekantuje a promyté krystaly se ihned rozpustí za mírného zahřátí ve 100 ml *chloroformu prostého ethanolu R*.

Uchovává se nad několika gramy *síranu sodného bezvodého R*.

**Chlorid antimonitý RS1**

*Roztok I.* 110 g *chloridu antimonitého RS* se rozpustí ve 400 ml *dichlorethanu R*. Přidají se 2 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>O

*M<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, žíravina.

*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

 $M_r$  168,4

CAS 7647-17-8

Bílý prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v acetonu.

**Chlorid cínatý R** $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  225,6

CAS 10025-69-1

Obsahuje nejméně 97,0 %  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

Bezbarvé krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96%, v kyselině octové ledové, kyselině chlorovodíkové a kyselině chlorovodíkové zředěné.

*Stanovení obsahu.* Do baňky se zabroušenou zátkou se naváží 0,500 g, rozpustí se v 15 ml kyseliny chlorovodíkové R a přidá se 10 ml vody R a 5 ml chloroformu R. Okamžitě se titruje jodičnanem draselným 0,05 mol/l VS až do odbarvení chloroformové vrstvy.

1 ml jodičnanu draselného 0,05 mol/l VS odpovídá 22,56 mg  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

**Chlorid cínatý RS**

20 g cínu R se zahřívá s 85 ml kyseliny chlorovodíkové R až do skončení vyvíjení vodíku a nechá se vychladnout.

Uchovává se nad cínem R, chráněný před vzduchem.

**Chlorid cínatý RS1**

V čas potřeby se smíchá 1 objemový díl chloridu cínatého RS s 10 objemovými díly kyseliny chlorovodíkové zředěné RS.

**Chlorid cínatý RS2**

K 8 g chloridu cínatého R se přidá 100 ml roztoku kyseliny chlorovodíkové R (200 ml/l) a třepe se do rozpuštění, v případě potřeby se zahřívá na vodní lázni při 50 °C. 15 min se probublává proudem dusíku R. Připravuje se v čas potřeby.

**Chlorid draselný R**

Viz článek Kalii chloridum.

*Při použití v infračervené spektrofotometrii (2.2.24) vyhovuje následující zkoušce:*

2 mm silný výlisek (tableta) látky sušený 1 h při 250 °C má prakticky rovnou základní linii v oblasti 4000  $\text{cm}^{-1}$  až 620  $\text{cm}^{-1}$ . Nad touto linií nejsou žádná maxima s absorpční vyšší než 0,02, s výjimkou maxim vody při 3440  $\text{cm}^{-1}$  a 1630  $\text{cm}^{-1}$ .

**Chlorid draselný 0,1 mol/l RS**

Roztok obsahuje chlorid draselný R v množství odpovídajícím 7,46 g KCl v 1000,0 ml.

**Chlorid hlinitý R** $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  241,4

CAS 7784-13-6

Chlorid hlinitý hexahydrát

Obsahuje nejméně 98,0 %  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

Bílý až slabě nažloutlý krystalický prášek, hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustný v etheru.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Chlorid hlinitý RS**

65,0 g chloridu hlinitého R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml. Po přidání 0,5 g aktivního uhlí R se 10 min míchá, potom se filtruje a pH filtrátu se za stálého míchání upraví roztokem hydroxidu sodného R (10 g/l) (asi 60 ml) na hodnotu 1,5.

**Chlorid hlinitý RS1**

2,0 g chloridu hlinitého R se rozpustí ve 100 ml roztoku kyseliny octové ledové R 5% (V/V) v methanolu R.

**Chlorid hořečnatý R**

Viz článek *Magnesii chloridum hexahydricum*.

**Chlorid chromitý hexahydrát R**

$[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cl}_2]\text{Cl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  266,5

CAS 10060-12-5

Tmavě zelený krystalický hygroskopický prášek.

Uchovává se chráněn před vlhkostí a oxidačními činidly.

**Chlorid kobaltnatý R**

$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  237,9

CAS 7791-13-1

Červený krystalický prášek nebo tmavě červené krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

**Chlorid lanthanitý RS**

K 58,65 g oxidu lanthanitého R se pomalu přidá 100 ml kyseliny chlorovodíkové R. Zahřeje se k varu. Nechá se ochladit a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

**Chlorid lithný R**

$\text{LiCl}$

$M_r$  42,39

CAS 7447-41-8

Krystalický prášek, zrna nebo krychlové rozplývavé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu a v lihu 96%. Vodný roztok je neutrální nebo slabě alkalický.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Chlorid měďnatý R**

$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  170,5

CAS 10125-13-0

Zelenomodrý prášek nebo krystaly, rozpadající se ve vlhkém vzduchu, zvětrávající v suchém vzduchu. Je snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v methanolu, mírně rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v etheru.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Chlorid nikelnatý R**

$\text{NiCl}_2$

$M_r$  129,6

CAS 7718-54-9

Bezvodý chlorid nikelnatý

Žlutý krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%. Sublimuje za nepřítomnosti vzduchu a ochotně absorbuje amoniak. Vodný roztok je kyselý.

**Chlorid palladnatý R**

$\text{PdCl}_2$

$M_r$  177,3

CAS 7647-10-1

Červené krystaly.

TT: 678 °C až 680 °C.

**Chlorid palladnatý RS**

1 g chloridu palladnatého R se rozpustí v 10 ml teplé kyseliny chlorovodíkové R a zředí se směsí stejných objemových dílů kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vody R na 250 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> $M_r$  154,3

CAS 7705-07-9

Červenofialové rozpadající se krystaly, dobře rozpustné ve vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustné v etheru.

TT: asi 440 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Chlorid titanitý RS**150 g/l v roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (100 g/l HCl). $d_{20}^{20}$ : asi 1,19.**Chlorid uhličitý R**CCl<sub>4</sub> $M_r$  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**CaCl<sub>2</sub> $M_r$  111,0

CAS 10043-52-4

Obsahuje nejméně 98,0 % CaCl<sub>2</sub>, 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 v sušárně při 200 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před vlhkostí.

**Chlorid vápenatý R1**CaCl<sub>2</sub> · 4H<sub>2</sub>O $M_r$  183,1

Obsahuje nejvýše 0,05 μg 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  $\text{ZrCl}_2\text{O} \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ .

Obsahuje nejméně 96,0 %  $\text{ZrCl}_2\text{O} \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ .

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bílé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

*Stanovení obsahu.* 0,600 g se rozpustí ve směsi 5 ml kyseliny dusičné R a 50 ml vody R, přidá se 50,0 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS a 3 ml dibutylftalatu R a zamíchá se. Titruje se 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  $\text{ZrCl}_2\text{O} \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ .

**Chloristan holmitý RS**

Roztok oxidu holmitého R (40 g/l) v roztoku kyseliny chloristé R (141 g/l  $\text{HClO}_4$ ).

**Chloristan sodný R**

$\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

$M_r$  140,5

CAS 7791-07-3

Obsahuje nejméně 99,0 %  $\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

Bílé rozpadající se krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

Uchovává se v dobře uzavřených obalech.

**Chlornan sodný RS**

Obsahuje 25 g/l až 30 g/l aktivního chloru. Nažloutlá kapalina alkalické reakce.

*Stanovení obsahu.* 10,0 ml se zředí vodou R na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se přeneso do kuželové baňky obsahující 50 ml vody R, 1 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**
 $C_{24}H_{26}ClN_3O_3$ 
 $M_r$  440,0

10 $\alpha$ -Methoxy-1,6-dimethylergolin-8 $\beta$ -ylmethyl-(5-chlornicotinat)

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**
 $CHCl_3$ 
 $M_r$  119,4

CAS 67-66-3

Trichlormethan

Čirá bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

$d_{20}^{20}$ : 1,475 až 1,481.

*TV:* asi 60 °C.

Obsahuje 0,4 % až 1,0 % ethanolu.

*Ethanol.* K 1,00 g (*m*) v kuželové baňce se zabroušenou zátkou se přidá 15,0 ml dichromanu draselného v kyselině dusičné RS, nádoba se uzavře, 2 min se silně třepo a 15 min se nechá stát. Přidá se 100 ml vody R a 5 ml roztoku jodidu draselného R (200 g/l). Po 2 min se titruje thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS jako indikátoru do vzniku světle zelené barvy ( $n_1$  ml thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS). Současně se provede slepá zkouška ( $n_2$  ml thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS). Obsah ethanolu v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{(n_2 - n_1) \cdot 0,115}{m}$$

**Chloroform okyselený R**

K 100 ml chloroformu R se přidá 10 ml kyseliny chlorovodíkové R. Protřepo se, nechá se stát, až se oddělí dvě vrstvy. Použije se spodní vrstva.

**Chloroform prostý ethanolu R**

200 ml chloroformu R se třepo čtyřikrát se 100 ml vody R. Suší se 24 h nad 20 g síranu sodného bezvodého R a zfiltruje se. Filtrát se destiluje nad 10 g síranu sodného bezvodého R. Prvních 20 ml destilátu se odstraní. Připravuje se v čas potřeby.

**Chloroform stabilizovaný amylenem R**

Čirá bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

Voda. Nejvýše 0,05 %.

Zbytek po odpaření. Nejvýše 0,001 %.

Transmittance (2.2.25): nejméně 50 % při 255 nm,  
nejméně 80 % při 260 nm,  
nejméně 98 % při 300 nm,

měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

Stanovení obsahu. Nejméně 99,8 % CHCl<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.

$d_{20}^{20}$ : asi 1,322.

$n_D^{20}$ : asi 1,480.

TV: asi 213 °C.

**Chlorpyrifos R**

C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>PS

M<sub>r</sub> 350,6

CAS 2921-88-2

TV: asi 200 °C.

TT: 42 °C až 44 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**Chlorpyrifos-methyl R**

C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>Cl<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>PS

M<sub>r</sub> 322,5

CAS 5598-13-0

TT: 45 °C až 47 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**Chlorthiazid 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.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,86.

$n_D^{20}$ : asi 1,388.

TV: asi 57 °C.

**Cholesterol R**

Viz článek *Cholesterolum*.

**Choliniumchlorid R**

C<sub>5</sub>H<sub>14</sub>ClNO

M<sub>r</sub> 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 μl 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-L-piperazin-L-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 v kyselině sírové R (0,05 g/l).

**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'-bisindolinyliiden-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 0,2 g indigokarmínu R.

Roztok vyhovuje následující zkoušce. K 10 ml roztoku se přidá roztok 1,0 mg dusičnanu draselného R v 10 ml vody R a rychle se přidá 20 ml kyseliny sírové prosté dusičnanů R a zahřeje se k varu. Modré zbarvení v průběhu 1 min zmizí.

**Indigokarmín RSI**

4 g indigokarmínu R se rozpustí v asi 900 ml vody R přidávané po částech, přidají se 2 ml kyseliny sírové R a zředí se vodou R na 1000 ml.

**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 RSI a potom se opatrně najednou přidá 30 ml kyseliny sírové R. Roztok se ihned titruje indigokarmínem RSI do vzniku stálého modrého zbarvení.Spotřebovaný počet mililitrů (n) odpovídá 1 mg  $NO_3$ .**Indikátor směsný BMF RS**

0,1 g modři bromthymolové R, 20 mg červeně methylové R a 0,2 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** $C_5H_{12}O$  $M_r$  88,1

CAS 123-51-3

3-Methyl-1-butanol

Bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

TV: asi 130 °C.

**Isoandrosteron R** $C_{19}H_{30}O_2$  $M_r$  290,4

CAS 481-29-8

Epiandrosteron, 3 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-on

Bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v organických rozpouštědlech.

TT: 172 °C až 174 °C.

 $[\alpha]_D^{20}$ : +88°; měří se roztok (20 g/l) v methanolu R. $\Delta A$  (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.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,80. $n_D^{15}$ : 1,397 až 1,399.

TV: asi 107 °C.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 96 % předestiluje při 107 °C až 109 °C.

**Isobutylmethylketon R**C<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.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,80.

TV: asi 115 °C.

Destilační rozmezí (2.2.11). Destiluje se 100 ml. Rozmezí teploty destilace od 1 ml do 95 ml destilátu nepřesahuje 4,0 °C.

Zbytek po odpaření. Nejvýše 0,01 %; stanoví se odpařováním na vodní lázni a sušením při 100 °C až 105 °C.

**Isobutylmethylketon RI**

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. Přípravuje se v čas potřeby.

**Isodrin**C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>Cl<sub>6</sub>M<sub>r</sub> 364,9

CAS 465-73-6

1,2,3,4,10,10-Hexachlor-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-endo,endo-1,4:5,8-dimethanonafalen

Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v běžných organických rozpouštědlech, jako je aceton.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok.

**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.

 $[\alpha]_D^{20}$ : 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** $C_{10}H_{18}O$  $M_r$  154,2(1*R*)-*cis*-*p*-Menthan-3-on; (1*R*)-*cis*-2-isopropyl-5-methylcyklohexanon

Obsahuje proměnlivá množství menthonu.

Bezbarvá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,904. $n_D^{20}$ : asi 1,453. $[\alpha]_D^{20}$ : +93,2°.*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:**Stanovení obsahu.* Zkouší se plynovou chromatografií (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 80,0 % celkové plochy piků.

**Isopropylamin R** $C_3H_9N$  $M_r$  59,1

CAS 75-31-0

2-Propanamin

Bezbarvá velmi těkává hořlavá kapalina.

 $n_D^{20}$ : asi 1,374.

TV: 32 °C až 34 °C.

**4-Isopropylfenol R** $C_9H_{12}O$  $M_r$  136,2

CAS 99-89-8

Obsahuje nejméně 98 %  $C_9H_{12}O$ .

TV: asi 212 °C.

TT: 59 °C až 61 °C.

**Isopropylmyristat 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. Připravuje se v čas potřeby.

**Jod RS2**

K 10,0 ml jodu 0,05 mol/l RS se přidá 0,6 g jodidu draselného R a zředí se vodou R na 1000,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

**Jod RS3**

2,0 ml jodu RS1 se zředí vodou R na 100,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

**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 ml.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Jod v chloroformu RS**

Roztok (5 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 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 *Tetraiodortuňnatan draselný RS*.

**Jodid rtuťnatodraselný zásaditý RS**

Viz odstavec *Tetraiodortuňnatan 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 třepe. Přidá se 200 ml roztoku jodidu draselného R (400 g/l) a dobře se protřepe. 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 RS3**

0,17 g *dusičnan-oxidu bismutitého R* se rozpustí ve směsi 2 ml *kyseliny octové ledové R* a 18 ml *vody R*. Přidají se 4 g *jodidu draselného R*, 1 g *jodu R* a zředí se *kyselinou sírovou zředěnou RS* na 100 ml.

**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**

$C_4H_3IN_2O_2$

$M_r$  238,0

CAS 696-07-1

5-Jod-1*H*,3*H*-pyrimidin-2,4-dion

*TT*: asi 276 °C, za rozkladu.

*Chromatografie*. Zkouší se postupem uvedeným v článku *Idoxuridinum*, nanáší se 5 µl roztoku (0,25 g/l). Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

**Kadmium R**

Cd

$A_r$  112,4

CAS 10108-64-2

Stříbrobílý lesklý kov, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v kyselině dusičné a horké kyselině chlorovodíkové.

**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 % celkové plochy všech píků na získaném chromatogramu. Nepřihlíží se k píku hexanu.

**Kalium tetraoxalat R**

$C_4H_3KO_8 \cdot 2H_2O$

$M_r$  254,2

CAS 6100-20-5

Trihydrogenbisšťavelan draselný dihydrát

Bílý krystalický prášek, mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný ve 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 zbývajícím 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. Zbývajícím suspenze se přenesou do odpařovací misky, odpaří se do sucha na vodní lázni a zbytek se vysuší do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 25 mg (0,5 %).

*Jemné částice*. 5,0 g se rozptýlí ve 250 ml *vody R* silným třepáním 2 min. Směs se ihned vyleje do skleněného válce o průměru 50 mm a pomocí pipety se 20 ml kvantitativně převede do skleněné misky, odpaří se do sucha na vodní lázni

a suší do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C. Zbytek suspenze se nechá stát 4 h při 20 °C a pipetou se 5 cm pod povrchem odebere dalších 20 ml bez rozčeření sedimentu, převede se do skleněné misky, odpaří se do sucha a suší do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C. Hmotnost druhého zbytku není menší než 70 % hmotnosti prvního zbytku.

***ε-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.

TT: 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.V článku *Adeps lanae* se může použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v trimethylpentanu).***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).***Kar-3-en R***C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>*M<sub>r</sub>* 136,2

CAS 498-15-7

3,7,7-Trimethylbicyklo[4,1,0]hept-3-en; 4,7,7-trimethyl-3-norkaren

Kapalina dráždivého pachu. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v organických rozpouštědlech.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,864.*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: 1,473 až 1,474.[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +15° až +17°.

TV: 170 °C až 172 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Macidis etheroleum*. Obsahuje nejméně 95,0 %, počítáno metodou normalizace.

***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.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,975.

$n_D^{20}$ : asi 1,523.

TV: asi 237 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

**Stanovení obsahu.** Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum*.

**Zkoušená látka.** 0,1 g se rozpustí v asi 10 ml acetonu R.

Na získaném chromatogramu je plocha hlavního píku nejméně 95,0 % celkové plochy všech píků, nepřihlíží se k píku acetonu.

#### **Karvon R**

$C_{10}H_{14}O$

$M_r$  150,2

CAS 2244-16-8

(S)-p-Mentha-6,8-dien-2-on; (+)-2-methyl-5-(1-methylethyl-2-cyklohexenon

Kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,965.

$n_D^{20}$ : asi 1,500.

$[\alpha]_D^{20}$ : asi +61°.

TV: asi 230 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

**Stanovení obsahu.** Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy píků.

#### **$\beta$ -Karyofylen R**

$C_{15}H_{24}$

$M_r$  204,4

CAS 87-44-5

(E)-(1R,9S)-4,11,11-Trimethyl-8-methylenbicyklo[7,2,0]undec-4-en

Olejevité kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a 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 píků.

#### **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 koncentrované na roztok slabě fialového zbarvení. Tvoří soli s kyselinami a zásadami. Izoelektrický bod je při asi pH 4,7. Alkalické roztoky jsou levotočivé.

#### **Katechin R**

$C_{15}H_{14}O_6 \cdot nH_2O$

$M_r$  290,3 (bezvodého)

CAS 154-23-4

(2R,3S)-2-(3,4-Dihydroxyfenyl)-3,5,7-chromantriol

**Synonyma.** D-Katechin; (+)-katechin hydrát; (+)-3-cianidanol, katechol, kyanidol

**Katex R**

Měníč iontů v protonové formě. Obsahuje sulfonové skupiny vázané na síťovaném polymeru, jehož základ tvoří polystyren s 8 % divinylbenzenu. Dodává se ve formě kuliček, jejichž průměr je uveden za názvem zkoumadla u příslušných zkoušek.

**Katex R1**

Měníč iontů v protonové formě. Obsahuje sulfonové skupiny vázané na síťovaném polymeru, jehož základ tvoří polystyren s 4 % divinylbenzenu. Dodává se ve formě kuliček, jejichž průměr je uveden za názvem zkoumadla u příslušných zkoušek.

**Katex silně kyselý R**

Měníč iontů v protonové formě. Obsahuje sulfonové skupiny vázané na síťovaném polymeru, jehož základ tvoří polystyren s 8 % divinylbenzenu. Dodává se ve formě kuliček o průměru 0,3 mm až 1,2 mm, pokud není uvedeno jinak.

*Kapacita.* 4,5 mmol/g až 5 mmol/g při obsahu vody 50 % až 60 %.

*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 oranže 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**

Měníč 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**

β-Alanin 0,1 mol/l

8,9 g β-alaninu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000 ml.

**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 *fosfolipidů 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 pětinašobném 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 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 0,1 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 RSI; 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 nebo 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 promývána 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 rozdrčených růžových křemelinových žáruvzdorných cihel silanizací dimethyldichlorsilanem nebo jiným vhodným silanizačním činidlem. Látka je čištěna kyselinou chlorovodíkovou R a promytá vodou R.

#### **Křemičitan hořečnatý pro reziduální analýzu pesticidů R**

CAS 1343-88-0

Křemičitan hořečnatý pro chromatografii (60 až 100 mesh).

#### **Kumafos R**

C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>ClO<sub>5</sub>PS

M<sub>r</sub> 362,8

CAS 56-72-4

TT: 91 °C až 92 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/µl v trimethylpentanu).

**Kumarin R** $C_9H_6O_2$  $M_r$  146,1

CAS 91-64-5

2H-Chromen-2-on

Bezbarvý krystalický prášek nebo kosočtverečné nebo obdélníkové krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vroucí vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, rozpouští se v roztocích alkalických hydroxidů.

TT: 68 °C až 70 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Cinnamomi etheroleum*. Obsahuje nejméně 98,0 %, počítáno metodou normalizace.

**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.

**Kynguanidin R** $C_2H_4N_4$  $M_r$  84,1

CAS 461-58-5

Dikyandiamid; 1-kynguanidin

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.

**Kyanid draselný prostý olova RS**

10 g kyanidu draselného R se rozpustí v 90 ml vody R, přidají se 2 ml peroxidu vodíku koncentrovaného R zředěného v poměru 1 : 5. Nechá se stát 24 h, zředí se vodou R na 100 ml a zfiltruje se.

Tento roztok vyhovuje následující dodatečné zkoušce: K 10 ml se přidá 10 ml vody R a 10 ml sirovodíku RS; nezbarví se ani po přidání 5 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS.

**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 °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 °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 °C.

TT: 12 °C až 15 °C.

**Kyselina aleuritová R** $C_{16}H_{32}O_5$  $M_r$  304,4

CAS 533-87-9

Kyselina (9RS,10SR)-9,10,16-trihydroxyhexadekanová

Bílý prášek, mastný na omak, dobře rozpustný v methanolu.

TT: asi 101 °C.

**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 °C, za rozkladu.

**Kyselina 2-aminobenzoová R**

Viz Kyselina anthranilová R.

**Kyselina 4-aminobenzoová R** $C_7H_7NO_2$  $M_r$  137,1

CAS 150-13-0

Bílý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru petrolejovém.

TT: asi 187 °C.

*Chromatografie.* Zkouší se za podmínek 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 4-aminobutanová R** $C_4H_9NO_2$  $M_r$  103,1

CAS 56-12-2

Kyselina  $\gamma$ -aminomáselná, GABA

Lístky z methanolu a etheru, jehličky z vody a lihu 96%. Je snadno rozpustná ve vodě, prakticky nerozpustná nebo těžce rozpustná v ostatních rozpouštědlech.

TT: asi 202 °C (rychlým zahřátím se rozkládá).

**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)aminooctová

Bílý nebo 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 disiřičitanu sodného.

Uchovává se chráněna před světlem.

**Kyselina aminohydroxynaftalensulfonová RS**5,0 g *siřičitanu sodného bezvodého R* se smíchá s 94,3 g *hydrogensiričitanu 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 1 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 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 %  $C_4H_{11}BO_2$ .

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  $M_r$   $2 \cdot 10^7$  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) měřené při 260 nm proti supernatantní kapalině (a) není menší než 0,15.

**Kyselina diazobenzensulfonová RS1**

0,9 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 ml kyseliny dichloroctové R se zředí vodou R na 300 ml a neutralizuje se amoniakem 17,5% RS za použití papíru lakmusového modrého R. Ochladí se, přidá se 33 ml kyseliny dichloroctové R a zředí se vodou R na 600 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 v lihu 96% R (20 g/l).

**Kyselina 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoová) R**C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 1,5.**Kyselina dusičná R**HNO<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 63,0

CAS 7697-37-2

Obsahuje 63,0 % až 70,0 % HNO<sub>3</sub>.

Čirá bezbarvá nebo téměř bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou.

d<sub>20</sub><sup>20</sup>: 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 Ž<sub>6</sub> (2.2.2, Metoda II).

Chloridy (2.4.4). K 5 g se přidá 10 ml vody R a 0,3 ml dusičnanu stříbrného RS2. Roztok se nechá 2 min stát chráněn před světlem. Opalescence tohoto roztoku není intenzivnější než opalescence porovnávacího roztoku připraveného za stejných podmínek smícháním 13 ml vody R, 0,5 ml kyseliny dusičné R, 0,5 ml základního roztoku chloridů (5 µg Cl/ml) a 0,3 ml dusičnanu stříbrného RS2 (0,5 µg/g).

Sírany (2.4.13). K 10 g se přidá 0,2 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 µg/g). Připraví se porovnávací roztok smícháním 2 ml základního roztoku síranů (10 µg SO<sub>4</sub>/ml) a 13 ml vody destilované R.

Arsen (2.4.2). 50 g se opatrně zahřívá s 0,5 ml kyseliny sírové R do vzniku bílých par. Ke zbytku se přidá 1 ml roztoku hydroxylamoniumchloridu R (100 g/l) a zředí se vodou R na 2 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na arsen (0,02 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1,0 ml základního roztoku arsenu (1 µg As/ml).

Těžké kovy (2.4.8). 10 ml roztoku připraveného ve zkoušce na železo se zředí vodou R na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (2 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (2 µg Pb/ml).

Železo (2.4.9). Zbytek ze zkoušky Síranový popel se rozpustí v 1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zředí se vodou R na 50 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (1 µg/g).

Síranový popel. Nejvýše 0,001 %. 100 g se opatrně odpaří do sucha. Zbytek se navlhčí několika kapkami kyseliny sírové R a žihá se v tmavočerveném žáru.

Stanovení obsahu. K 1,50 g se přidá 50 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 63,0 mg HNO<sub>3</sub>.

Uchovává se chráněna před světlem.

**Kyselina dusičná zředěná RS**Obsahuje asi 125 g/l HNO<sub>3</sub> (M<sub>r</sub> 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 dodatečným 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 dodatečné zkoušce:

Ke 100 g se přidá 0,1 g *uhlčitanu 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-fenoxoethanová

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-trifluormethyl]fenyl]amino}benzoová

Světle žlutý krystalický prášek nebo jehličky. Je prakticky nerozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96%.

*TT*: 132 °C až 135 °C.

**Kyselina fluorovodíková R**HF  $M_r$  20,01 CAS 7664-39-3

Obsahuje nejméně 40,0 % HF.

Čirá bezbarvá kapalina.

*Zbytek po žihání.* Nejvýše 0,05 %. Kyselina fluorovodíková se odpaří v platinovém kelímku a zbytek se opatrně žihá do konstantní hmotnosti.

*Stanovení obsahu.* Kuželová baňka se zabroušenou zátkou, obsahující 50,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS*, se zváží přesně. 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 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 fosforitá R**H<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>  $M_r$  82,0 CAS 13598-36-2Bílá velmi hygroskopická a rozplývající se krystalická hmota; pomalu se oxiduje vzdušným kyslíkem na H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

Nestabilní kosočtverečné krystaly. Je dobře rozpustná ve vodě, v lihu 96% a ve směsi objemových dílů etheru a lihu 96% (3 + 1).

 $d_4^{21}$ : 1,651.

TT: asi 73 °C.

**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 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** $C_6H_{10}O_7$  $M_r$  194,1

CAS 6556-12-3

Obsahuje nejméně 96,0 %  $C_6H_{10}O_7$ , 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

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*. Vychází 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 18 $\alpha$ -glycyrrhetinová R** $C_{30}H_{46}O_4$  $M_r$  470,7

CAS 1449-05-4

Kyselina (20 $\beta$ )-3 $\beta$ -hydroxy-11-oxo-18 $\alpha$ -olean-12-en-29-ová.

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v ethanolu a mírně rozpustná v dichlormethanu.

**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-trihydroxycyklohexan-karboxylová

Bílý krystalický prášek nebo bílé jehličky. Je 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 follii extractum siccum normatum*. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.**Kyselina chlorovodíková R**Viz článek *Acidum hydrochloricum* 35%.

**Kyselina chlorovodíková RS**

Obsahuje 250 g/l HCl. 70 g *kyseliny chlorovodíkové R* se zředí *vodou R* na 100 ml.

**Kyselina chlorovodíková 10% RS**

Obsahuje 10,9 % HCl (asi 3 mol/l).

Příprava: 44 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* se zředí *vodou R* na 100 ml.

**Kyselina chlorovodíková zředěná RS**

Obsahuje 73 g/l HCl. 20 g *kyseliny chlorovodíkové R* se zředí *vodou R* na 100 ml.

**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 zkoušce:

*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**

Nasyčený roztok oxidu chromového R v kyselině sírové R.

**Kyselina isobarbiturová R**

$C_4H_4N_2O_3$

$M_r$  128,1

CAS 496-76-4

5-Hydroxyuracil; pyrimidin-2,4,5-triol

Bílý krystalický prášek.

*TT*: asi 310 °C, za rozkladu.

*Chromatografie*. Zkouší se postupem uvedeným v článku *Fluorouracilum*. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna o  $R_F$  asi 0,3.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Kyselina jantarová R**

$C_4H_6O_4$

$M_r$  118,1

CAS 110-15-6

Kyselina butandiová

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustná ve vodě a v lihu 96%.

*TT*: 184 °C až 187 °C.

**Kyselina 2-jodbenzoová R**

$C_7H_5IO_2$

$M_r$  248,0

CAS 88-67-5

Bílý nebo světle žlutý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

*TT*: asi 160 °C.

*Chromatografie* (2.2.27). Na vrstvu celulosy pro chromatografii  $F_{254}$  R se nanese 20  $\mu$ l roztoku připraveného rozpuštěním 40 mg zkoušené látky ve 4 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a zředěného vodou R na 10 ml. Vyvíjí se horní vrstvou získanou třepáním směsi objemových dílů toluenu R, kyseliny octové ledové R a vody R (40 + 40 + 20) po dráze 12 cm.

Po vysušení na vzduchu se vrstva pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

**Kyselina 2-jodhippurová R**

$C_9H_8INO_3 \cdot 2H_2O$

$M_r$  341,1

CAS 147-58-0

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, mírně rozpustný ve vodě.

*TT*: asi 170 °C.

Voda (2.5.12). 9 % až 13 %, stanoví se s 1,000 g.

*Chromatografie* (2.2.27). Na tenkou vrstvu celulosy pro chromatografii  $F_{254}$  R se nanese 20  $\mu$ l roztoku připraveného rozpuštěním 40 mg zkoušené látky ve 4 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a zředěného vodou R na 10 ml. Vyvíjí se

horní vrstvou získanou třepáním směsí objemových dílů *toluenu R*, *kyseliny octové ledové R* a *vody R* (40 + 40 + 20) po dráze 12 cm. Po vysušení na vzduchu se vrstva pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

**Kyselina jodistá R**

$\text{H}_3\text{IO}_6$   $M_r$  227,9 CAS 10450-60-9

Krystaly snadno rozpustné ve vodě a dobře rozpustné v lihu 96%.

*TT*: asi 122 °C.

**Kyselina jodoctová R**

$\text{C}_2\text{H}_3\text{IO}_2$   $M_r$  185,9 CAS 64-69-7

Bezbarvé nebo bílé krystaly, dobře rozpustné ve vodě nebo v lihu 96%.

*TT*: 82 °C až 83 °C.

**Kyselina jodovodíková R**

HI  $M_r$  127,9 CAS 10034-85-2

Připravuje se destilací kyseliny jodovodíkové nad červeným fosforem v 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 parafinem.

**Kyselina (1S)-(+)-10-kafrsulfonová R**

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{S}$   $M_r$  232,3 CAS 3144-16-9

Kyselina (1S,4R)-(+)-2-oxo-10-bornensulfonová, kyselina Reychlerova, kyselina [(1S)-7,7-dimethyl-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**

$\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$   $M_r$  492,5 CAS 3737-95-9

Trihydrát kyseliny 2-hydroxy-1-(2-hydroxy-4-sulfo-1-naftylazo)naftalen-3-karboxylové

Hnědočerný prášek, těžce rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v acetonu a v lihu 96%, mírně rozpustný ve zředěném roztoku hydroxidu sodného.

**Kyselina kalkonkarboxylová s chloridem sodným R**

1 díl *kyseliny kalkonkarboxylové R* se smíchá s 99 díly *chloridu sodného R*.

*Zkouška citlivosti*. 50 mg směsi se rozpustí ve směsi 2 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS* a 100 ml *vody R*; roztok je zbarven modře. Po přidání 1 ml roztoku *síranu hořečnatého R* (10,0 g/l) a 0,1 ml roztoku *chloridu vápenatého R* (1,5 g/l) je roztok fialový a po přidání 0,15 ml roztoku *edetanu disodného 0,01 mol/l VS* se roztok zbarví čistě modře.

**Kyselina kávová R**

$\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$   $M_r$  180,2 CAS 331-39-5

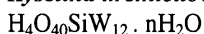
Kyselina 3,4-dihydroxyskořicová, kyselina (E)-3-(3,4-dihydroxyfenyl)propenová

Bílé nebo téměř bílé krystaly nebo plátky. Je snadno rozpustná v horké vodě a v lihu 96%, mírně rozpustná ve studené vodě.

*TT*: asi 225 °C, za rozkladu.

Čerstvě připravený roztok při pH 7,6 vykazuje absorpční maximum (2.2.25) při 293 nm a 329 nm.

**Kyselina křemičitowolframová R**

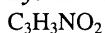


CAS 11130-20-4

Bílé nebo žlutobílé rozplývavé krystaly, velmi dobře rozpustné ve vodě a v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Kyselina kyanoctová R**

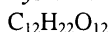
 $M_r$  85,1

CAS 372-09-8

Bílé až žlutobílé hygroskopické krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

Uchovává se ve vzduchotěsném obalu.

**Kyselina laktobionová R**

 $M_r$  358,3

CAS 96-82-2

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

*TT*: asi 115 °C.

**Kyselina listová R**

Viz článek *Acidum folicum*.

**Kyselina maleinová R**

Viz článek *Acidum maleicum*.

**Kyselina máselná R**

 $M_r$  88,1

CAS 107-92-6

Kyselina butanová

Olejovitá kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.

Obsahuje nejméně 99,0 % sloučeniny  $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ .

$d_{20}^{20}$ : asi 0,96.

$n_D^{20}$ : asi 1,398.

*TV*: asi 163 °C.

**Kyselina metafosforečná R**



CAS 37267-86-0

Sklovité chuchvalce nebo tyčinky obsahující část metafosforečnanu sodného, hygroskopické, velmi snadno rozpustné ve vodě.

*Dusičnany*. 1,0 g se vaří s 10 ml *vody R*, ochladí se, přidá se 1 ml *indigokarmínu RS*, 10 ml *kyseliny sírové prosté dusičnanů R* a zahřívá se k varu. Slabé modré zbarvení zůstává.

*Redukující látky*. Nejvýše 0,01 % redukujících látek, počítaných jako  $\text{H}_3\text{PO}_3$ . 35,0 g se rozpustí v 50 ml *vody R*. Přidá se 5 ml roztoku *kyseliny sírové R* (200 g/l), 50 mg *bromidu draselného R* a 5,0 ml *bromičnanu draselného 0,02 mol/l VS* a zahřívá se 30 min na vodní lázni. Nechá se ochladit a přidá se 0,5 g *jodidu draselného R*. Uvolněný jod se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *bromičnanu draselného 0,02 mol/l VS* odpovídá 4,10 mg  $\text{H}_3\text{PO}_3$ .

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Kyselina methakrylová R**

 $M_r$  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>S

*M<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*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 1,48.

*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: 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, žiravina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 1,22.

**Stanovení obsahu.** Do přesně 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, kaprad'ovité krystaly. Je mísitelná (nebo velmi snadno rozpustná) s vodou, s lihem 96%, s etherem, glycerolem 85% a s většinou silic a mastných olejů.

Roztok 100 g/l je silně kyselý (2.2.4). Roztok 5 g/l neutralizovaný amoniakem zředěným RS2 vyhovuje zkoušce (b) na octany (2.3.1).

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: 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 acetahydridu 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  $C_2H_4O_2$  ( $M_r$  60,1).  
30 g kyseliny octové ledové R se zředí vodou R na 100 ml.

**Kyselina octová zředěná RS**

Obsahuje 115 g/l až 125 g/l  $C_2H_4O_2$  ( $M_r$  60,1).  
12 g kyseliny octové ledové R se zředí vodou R na 100 ml.

**Kyselina palmitová R**

$C_{16}H_{32}O_2$   $M_r$  256,4 CAS 57-10-3

Kyselina hexadekanová

Bílé krystalické šupiny, prakticky nerozpustné ve vodě, snadno rozpustné v horkém lihu 96% a v etheru.

TT: asi 63 °C.

Chromatografie (2.2.27). Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Chloramphenicoli palmitas*. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

**Kyselina pikrová R**

Viz Trinitrofenol R.

**Kyselina propionová R**

$C_3H_6O_2$   $M_r$  74,1 CAS 79-09-4

Olejovitá kapalina, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru, mísitelná s vodou.

$d_{20}^{20}$ : 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 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** $\text{H}_2\text{SeO}_3$  $M_r$  129,0

CAS 7783-00-8

Rozplývavé krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Kyselina sialová R**Viz kyselina *N*-acetylneuraminová R.**Kyselina sírová R** $\text{H}_2\text{SO}_4$  $M_r$  98,1

CAS 7664-93-9

Obsahuje 95,0 % až 97,0 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Bezbarvá olejovitá žiravá 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 kyselě a vyhovuje zkoušce na sírany (2.3.1).

Vzhled. Je čirá (2.2.1) a bezbarvá (2.2.2, Metoda II).

**Oxidovatelné látky.** 20 g se za chlazení opatrně vleje do 40 ml vody R a přidá se 0,5 ml manganistanu draselného 0,002 mol/l VS. Do 5 min fialové zbarvení nezmizí.**Chloridy.** 10 g se za silného chlazení naleje do 10 ml vody R. Po ochlazení se zředí vodou R na 20 ml. Přidá se 0,5 ml dusičnanu stříbrného RS2 a 2 min se uchovává chráněn před přímým světlem. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací roztok připravený za použití 1 ml základního roztoku chloridů (5  $\mu\text{g Cl/ml}$ ), 19 ml vody R a 0,5 ml dusičnanu stříbrného RS2 (0,5  $\mu\text{g/g}$ ).**Dusičnany.** 50 g nebo 27,2 ml se opatrně a za chlazení naleje do 15 ml vody R. Přidá se 0,2 ml čerstvě připraveného roztoku brucinu R (50 g/l) v kyselině octové ledové R. Vzniklé červené zbarvení není po 5 min silnější než zbarvení porovnávacího roztoku, který byl současně připraven z 12,5 ml vody R, 50 g kyseliny sírové prosté dusičnanů R, 2,5 ml základního roztoku dusičnanů (10  $\mu\text{g NO}_3/\text{ml}$ ) a 0,2 ml roztoku brucinu R (50 g/l) v kyselině octové ledové R (0,5  $\mu\text{g/g}$ ).**Amonium.** 2,5 g se opatrně a za chlazení rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. Po ochlazení se po kapkách přidá 10 ml hydroxidu sodného R (200 g/l) a 1 ml tetrajodortuňanu draselného zásaditého RS. Roztok není zbarven silněji než směs 5 ml základního roztoku amoniaku (1  $\mu\text{g NH}_4/\text{ml}$ ), 15 ml vody R, 10 ml roztoku hydroxidu sodného R (200 g/l) a 1 ml tetrajodortuňatanu draselného zásaditého RS (2  $\mu\text{g/g}$ ).**Arsen (2.4.2).** K 50 g se přidají 3 ml kyseliny dusičné R, opatrně se odpaří asi na 10 ml. Po ochlazení se ke zbytku po odpaření přidá 20 ml vody R a zahustí se na 5 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (0,02  $\mu\text{g As/ml}$ ). Na přípravu porovnávacího roztoku se použije 1,0 ml základního roztoku arsenu (1  $\mu\text{g As/ml}$ ).**Těžké kovy (2.4.8).** 10 ml roztoku z limitní zkoušky na železo se zředí vodou R na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (2  $\mu\text{g/g}$ ). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (2  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).**Železo (2.4.9).** Popel ze zkoušky Zbytek po spálení se za mírného zahřátí rozpustí v 1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zředí se vodou R na 50,0 ml. 5 ml tohoto roztoku zředěného vodou R na 10 ml vyhovuje limitní zkoušce na železo (1  $\mu\text{g/g}$ ).**Zbytek po spálení.** Nejvýše 0,001 %. 100 g se opatrně odpaří v malém kelímku nad plamenem a zbytek se žihá v 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  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

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 mg difenylbenzidinu R. Roztok se zbarví jen slabě růžově nebo velmi slabě světle modře.

#### **Kyselina sírová v líhu RS**

K 60 ml líhu 96% R se opatrně a za stálého chlazení a míchání přidá 20 ml kyseliny sírové R. Po ochlazení se zředí líhem 96% R na 100 ml. Připravuje se v čas potřeby.

#### **Kyselina sírová v líhu 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 líhu 0,25 mol/l RS**

10 ml kyseliny sírové v líhu 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 líhu 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 líhu 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 g/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 líhu 96%, dobře rozpustná v etheru.

TT: asi 109 °C.

#### **Kyselina šťavelová R**

C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 126,1

CAS 6153-56-6

Bílé krystaly, dobře rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v líhu 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.

Zirátá 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 trifluoroctová R** $C_2HF_3O_2$  $M_r$  114,0

CAS 76-05-1

Obsahuje nejméně 99 %  $C_2HF_3O_2$ .

Kapalina, mísitelná s acetonem, s lihem 96% a s etherem.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,53.

TV: asi 72 °C.

Použije se jakost vhodná pro dělení 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**

Schultz 1386

CAS 1393-92-6

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*.**Lauromakrogol 23 R**Vyhovuje požadavkům článku *Lauromacrogolum*. Počet oxyethylenových jednotek na molekulu laurylalkoholu je 23 (jmenovitá hodnota).**Laurylalkohol R** $C_{12}H_{26}O$  $M_r$  186,3

CAS 112-53-8

1-Dodekanol

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,820.

TT: 24 °C až 27 °C.

**Laurylsíran 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  $94^\circ\text{C}$ .

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Lavandulae etheroleum*.

*Zkoušený roztok.* Zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % plochy všech získaných píků na chromatogramu.

#### **Lavandulylacetat R**

$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_2$

$M_r$  196,3

CAS 50373-59-6

(±)-2-Isopropenyl-5-methyl-4-hexen-1-ylacetat

Bezbarvá kapalina s charakteristickým pachem.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,911.

$n_D^{20}$ : asi 1,454.

$TV_{13}$ :  $106^\circ\text{C}$  až  $107^\circ\text{C}$ .

*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.

#### **Leucin R**

Viz článek *Leucinum*.

#### **Levomenol**

$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$

$M_r$  222,4

CAS 23089-26-1

(-)-(2S)-6-Methyl-2-[(1S)-4-methylcyklohex-3-enyl]hept-5-en-2-ol; (-)- $\alpha$ -bisabolol

Bezbarvá viskózní tekutina, slabého charakteristického pachu. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný lihu 96%, v methanolu, v toluenu, v mastných olejích a v silicích.

$d_{20}^{20}$ : 0,925 až 0,935.

$n_D^{20}$ : 1,493 až 1,500.

$[\alpha]_D^{20}$ :  $-54,5^\circ$  až  $-58,0^\circ$ ; stanoví se s roztokem v lihu 96% R (50 mg/ml).

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Matricaria extractum liquidum*.

*Zkoušený roztok.* 20 mg se rozpustí v 5 ml *cyklohexanu R*.

Obsahuje nejméně 95,0 %, počítáno metodou normalizace, nepřihlíží se k píku *cyklohexanu*.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn světlem.

#### **Lih 96% R**

$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$

$M_r$  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 stereoizomerů (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 ethanolom 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.

**Lindan R** $C_6H_6Cl_6$  $M_r$  290,8

CAS 58-89-9

$\gamma$ -Hexachlorcyklohexan

Viz článek *Lindanum*.

V článku *Adeps lanae* se může použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/ $\mu$ l v cyklohexanu).

**Lithium R**Li A<sub>r</sub> 6,94 CAS 7439-93-2

Měkký kov, na povrchu čerstvého řezu je stříbrošedý. Na vzduchu rychle ztrácí lesk. Reaguje bouřlivě s vodou za uvolnění vodíku a tvorby roztoku hydroxidu lithného. Dobře se rozpouští v methanolu za tvorby vodíku a roztoku methanolatu lithného. Lithium je prakticky nerozpustné v etheru a v etheru petrolejovém.

Uchovává se pod etherem petrolejovým nebo tekutým parafinem.

**Makrogol 200 R**

CAS 25322-68-3

Polyethylenglykol 200

Čirá bezbarvá nebo téměř bezbarvá viskózní kapalina, velmi snadno rozpustná v acetonu a v ethanolu, prakticky nerozpustná v etheru a v mastných olejích.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,127. $n_D^{20}$ : asi 1,450.**Makrogol 200 R1**

500 ml makrogolu 200 R se přemístí do 1000ml baňky s kulatým dnem. Za použití rotačního odpařovacího přístroje se odstraní případné těkavé složky během 6 h při teplotě 60 °C a vakuu s tlakem 1,5 kPa až 2,5 kPa.

**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

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 téměř 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.

**Malathion R** $C_{10}H_{19}O_6PS_2$   $M_r 330,3$ 

CAS 121-75-5

TV: asi 156 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v trimethylpentanu).

**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 ethanolu.

 $[\alpha]_D^{20}$  : +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, hoblina, 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

(*R**S*)-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<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OSM<sub>r</sub> 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<sub>6</sub>H<sub>10</sub>OM<sub>r</sub> 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<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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 lihem 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:*

Transmitance (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 následujícím dodatečným požadavkům:*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 g *hořčíku 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>Na

*M<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*.

**DL-Methionin R**

Viz článek *Methioninum racemicum*.

**(RS)-Methotrexat R**

CAS 60388-53-6

Kyselina (RS)-2- {4- [(2,4-diaminopteridin-6-yl)methyl]methylamino}benzoylamino}pentandiová

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<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>

*M<sub>r</sub>* 76,1

CAS 109-86-4

2-Methoxyethanol; ethylenglykolmonomethylether

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou, s lihem 96%, s etherem a s acetonem.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,97.

*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: asi 1,403.

*TV*: asi 125 °C.

**Methoxychlor R**

C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

*M<sub>r</sub>* 345,7

CAS 72-43-5

1,1-(2,2,2-Trichlorethyliden)-bis(4-methoxybenzen)

Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný ve většině organických rozpouštědel.

*TV*: asi 346 °C.

*TT*: 78 °C až 86 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v trimethylpentanu).

**trans-2-Methoxycinnamaldehyd R** $C_{10}H_{10}O_2$  $M_r$  162,2

CAS 60125-24-8

TT: 44 °C až 46 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:**Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Cinnamomi etheroleum*. Obsahuje nejméně 96,0 %, počítáno metodou normalizace.**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 piků.

**Methylarachidat R** $C_{21}H_{42}O_2$  $M_r$  326,6

CAS 1120-28-1

Methylkosoanoat

Obsahuje nejméně 98,0 %  $C_{21}H_{42}O_2$ ; stanoví se plynovou chromatografií (2.4.22).

Bílá nebo žlutá krystalická hmota, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru petrolejovém.

TT: asi 46 °C.

**Methylbehenat R** $C_{23}H_{46}O_2$  $M_r$  354,6

CAS 929-77-1

Methyldokosoanoat

TT: 54 °C až 55 °C.

**Methylbenzothiazolinonhydrazonhydrochlorid R** $C_8H_{10}ClN_3S \cdot H_2O$  $M_r$  233,7

CAS 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 aldehydů R* se přidá 60 µl roztoku *propionaldehydu R* (1 g/l) v *methanolu prostém aldehydů R* a 5 ml roztoku methylbenzothiazolinonhydrazonhydrochloridu (4 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 g/l) ke zkoušenému roztoku i ke slepé zkoušce, zředí se *acetone* 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 %.

Transmittance (2.2.25): nejméně 50 % při 210 nm,  
nejméně 85 % při 220 nm,  
nejméně 98 % při 240 nm a výše,

měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

**Methylcelulosa 450 R**Viz článek *Methylcellulosum*.

Jmenovitá viskozita je 450 mPa.s.

**Methylcinnamat R** $C_{10}H_{10}O_2$  $M_r$  162,2

CAS 103-26-4

Bezbarvé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96% a v etheru.

 $n_D^{20}$ : asi 1,56.

TV: asi 260 °C.

TT: 34 °C až 36 °C.

**Methyldekanoat R** $C_{11}H_{22}O_2$  $M_r$  186,3

CAS 110-42-9

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 *sirouhlíku R*, roztok (II) - roztok (2 g/l) v *sirouhlíku R* a roztok (III) - *sirouhlík 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).

**3-O-Methyl-dopaminiumchlorid 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.

**4-O-Methyldopaminiumchlorid R**C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>ClNO<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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 µl roztoku (0,075 g/l) v *methanolu R*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

**Methylenbisakrylamid R**C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>26</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 392,5

CAS 3073-87-8

1,4-Bis(5-fenyl-4-methyl-2-oxazolyl)benzen

Jemný zelenožlutý prášek s modrou fluorescencí nebo malé krystaly. Je dobře rozpustný v lihu 96%, mírně rozpustný v xylenu.

TT: asi 233 °C.

*Při použití pro kapalinnou scintilaci má odpovídající analytickou jakost.*

**Methylkosenoat R**C<sub>21</sub>H<sub>40</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 324,5

CAS 2390-09-2

Methyl-*cis*-11-ikosenoat**Methylkapronat R**C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>13</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 214,4

CAS 111-82-0

Methyldodekanoat

Obsahuje nejméně 98,0 % C<sub>13</sub>H<sub>26</sub>O<sub>2</sub>; 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 2442-49-1

Methyltetrakosanoat

Vločky.

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

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** $C_4H_5N_3O_2$  $M_r$  127,1

CAS 88054-22-2

Bílý až světle žlutý prášek.

TT: 252 °C až 254 °C.

- Methyloktanoat R**  
 $C_9H_{18}O_2$   $M_r$  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**  
 $C_{19}H_{36}O_2$   $M_r$  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**  
 $C_{17}H_{34}O_2$   $M_r$  270,5 CAS 112-39-0  
Methylhexadekanoat  
Obsahuje nejméně 98,0 %  $C_{17}H_{34}O_2$ ; stanoví se plynovou chromatografií (2.4.22).  
Bílá nebo žlutá krystalická hmota, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru petrolejovém.  
TT: asi 30 °C.
- Methylpalmitooleat R**  
 $C_{17}H_{32}O_2$   $M_r$  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**  
 $C_6H_{14}O$   $M_r$  102,2 CAS 108-11-2  
Čirá bezbarvá těkavá kapalina.  
 $d_4^{20}$ : asi 0,802.  
 $n_D^{20}$ : asi 1,411.  
TV: asi 132 °C.
- Methylpiperazin R**  
 $C_5H_{12}N_2$   $M_r$  100,2 CAS 74879-18-8  
1-Methylpiperazin  
Bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.  
 $d_{20}^{20}$ : asi 0,90.  
 $n_D^{20}$ : asi 1,466.  
TV: asi 138 °C.

**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.

**N-Methyltrimethylsilyl-trifluoracetamid R** $C_6H_{12}F_3NOSi$  $M_r$  199,3

CAS 24589-78-4

2,2,2-Trifluor-N-methyl-N-(trimethylsilyl)acetamid

 $n_D^{20}$ : asi 1,380.

TV: 130 °C to 132 °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'-(3*H*-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**

0,2 g *modři bromfenolové R* se rozpustí zahřátím ve směsi 3 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a 10 ml *lihu 96% R*. Po ochlazení se zředí *lihem 96% R* na 100 ml.

**Modř bromfenolová v lihu RS**

Roztok *modři bromfenolové R* (0,4 g/l) v *lihu 96% R*.

**Modř bromthymolová R**

$C_{27}H_{28}Br_2O_5S$

$M_r$  624,4

CAS 76-59-5

4,4'-(3*H*-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**

0,1 g *modři bromthymolové R* se rozpustí varem 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**

CAS 9049-32-5

Připravuje se z dextransu o průměrné relativní molekulové hmotnosti  $2 \cdot 10^6$  zavedením polycyklického chromoforu, který zbarví látku modře. Stupeň substituce je 0,017. Lyofilizuje se a rozpouští se rychle a úplně ve vodě 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 R**

1,5 g fibrinu se smíchá s 30 ml roztoku *indigokarmínu 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). Proveďte se tenkovrstvá chromatografie. Na vrstvu *silikagelu G R* se nanese 10  $\mu$ l 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 kyselá 92 R* se rozpustí ve směsi 10 ml *kyseliny octové ledové R*, 45 ml *lihu 96% R* a 45 ml *vody R*.

**Modř methylenová R** $C_{16}H_{18}ClN_3S \cdot nH_2O$  $M_r$  bezvodé 319,9CAS 61-73-4 (bezvodé)  
CAS 7220-79-3 (trihdrátu)

Colour Index 52015, Schultz 1038

Methylthioniumchlorid, tj. n-hydrát 3,7-bis(dimethylamino)fenothiazin-5-iumchloridu

Látka je dodávána v různých 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** $C_{20}H_{21}N_3O_5S$  $M_r$  415,5

CAS 3625-57-8

Colour Index 51180, Schultz 1029

5-Amino-9-diethylaminobenzo[*a*]fenoxazinyliumhydrogensulfat

Zelený bronzově lesklý krystalický prášek, mírně rozpustný v kyselině octové ledové, lihu 96% a pyridinu. Absorpční maximum (2.2.25) roztoku (0,005 g/l) v lihu R 50% (V/V) je při 640 nm.

**Modř nilská A RS**

Roztok (10 g/l) v kyselině octové bezvodé R.

Zkouška citlivosti. 50 ml kyseliny octové bezvodé R se smíchá s 0,25 ml roztoku modři nilské A; roztok je modrý.

Přidáním nejvýše 0,1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS se zbarvení změní na modrozelené.

Barevný přechod. pH 9,0 (modrá) až 13,0 (červená).

**Modř nitrotetrazoliová R** $C_{40}H_{30}Cl_2N_{10}O_6$  $M_r$  818,0

CAS 298-83-9

3,3'-(3,3'-Dimethoxybifenyl-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 ( $C_{21}H_{16}N_2O_2$ ;  $M_r$  328,4) a 1-amino-4-anilinoanthrachinonu ( $C_{20}H_{14}N_2O_2$ ;  $M_r$  314,3).

Tmavě modrofialový prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a kyselině octové bezvodé.

**Modř oracetová 2R R** $C_{20}H_{14}N_2O_2$  $M_r$  314,3

CAS 4395-65-7

Colour Index 61110

1-Amino-4-(fenylamino)anthrachinon

TT: asi 194 °C.

**Modř pravá B R** $C_{14}H_{12}Cl_2N_4O_2$  $M_r$  339,2

CAS 84633-94-3

Colour Index 37235; Schultz 490

3,3'-Dimethoxydifenyl-4,4'-bis(diazonium)dichlorid

Tmavě zelený prášek, dobře rozpustný ve vodě. Je stabilizován přidáním chloridu zinečnatého.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, při teplotě 2 °C až 8 °C.

**Modř sulfanová R** $C_{27}H_{31}N_2NaO_6S_2$  $M_r$  566,6

CAS 129-17-9

Colour Index 42045, Schultz 769

Sodná sůl vnitřní soli 4-[bis(4-diethylaminofenyl)methyl]-3-sulfobenzensulfonové kyseliny

Fialový prášek, dobře rozpustný ve vodě. Zředěné roztoky jsou zbarveny modře a po přidání kyseliny chlorovodíkové R se zbarvení změní na žluté.

**Modř tetrazoliová R** $C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2$  $M_r$  728,0

CAS 1871-22-3

3,3'-(3,3'-Dimethoxy[1,1'-bifenyl]-4,4'-diyl)bis(2,5-difenyl-2H-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'-(3H-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**

0,1 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.

**Molekulární síto pro chromatografii R**

Molekulární síto z křemičitanu sodno-hlinitého. Ve zkouškách, kde se používá, se uvede velikost pórů za názvem zkoumadla. Je-li třeba, uvede se také velikost částic.

**Molybdenan hexaamonný R** $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$  $M_r$  1236,0s

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 g molybdenanu hexaamonného R se rozpustí zahřátím ve 20 ml vody R.

Roztok II. 150 ml lihu 96% R se smíchá se 150 ml vody R. Za chlazení se přidá 100 ml kyseliny sírové R.

V čas potřeby se smíchají objemové díly roztoku II a roztoku I (80 + 20).

**Molybdenan hexaamonný RS4**

1,0 g molybdenanu hexaamonného R se rozpustí ve vodě R a zředí se vodou R na 40 ml. Přidají se 3 ml kyseliny chlorovodíkové R a 5 ml kyseliny chloristé R a zředí se acetonem R na 100 ml.

Uchovává se chráněn před světlem, použitelný je 1 měsíc.

**Molybdenan-kyselina sírová RS2**

Asi 50 mg molybdenanu hexaamonného R se rozpustí v 10 ml kyseliny sírové R.

**Molybdenan-kyselina sírová RS3**

2,5 g molybdenanu hexaamonného R se zahřátím rozpustí v 20 ml vody R. Odděleně se za chlazení smíchá 28 ml kyseliny sírové R s 50 ml vody R. Po ochlazení se oba roztoky smíchají a zředí vodou R na 100 ml.

Uchovává se v nádobách z polyethylenu.

**Molybdenan-kyselina sírová RS5**

1,0 g molybdenanu hexaamonného R se rozpustí v 40,0 ml roztoku kyseliny sírové R 15% (V/V).

Roztok se připravuje denně.

**Molybdenan sodný R**

$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  242,0

CAS 10102-40-6

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě.

**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 % predestiluje při 126 °C až 130 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Morfolin pro chromatografii R**

Vyhovuje požadavkům odstavce Morfolin R a následujícímu požadavku:

Obsahuje nejméně 99,5 % sloučeniny  $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$ .

**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**CHNaO<sub>2</sub> $M_r$  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**C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub> $M_r$  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> $M_r$  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 piků získaných na chromatogramu.

**Myristicin R**C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> $M_r$  192,2

CAS 607-91-0

5-Allyl-1-methoxy-2,3-methylenedioxybenzen; 4-methoxy-6-(2-propenyl)-1,3-benzodioxol

Bezbarvá olejovitá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, těžce rozpustná v ethanolu, dobře rozpustná v etheru, mísitelná s toluenem a xylenem.

$d_{20}^{20}$ : asi 1,144.

$n_D^{20}$ : asi 1,540.

TV: 276 °C až 277 °C.

TT: asi 173 °C.

*Chromatografie.* Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Anisi stellati fructus*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Myristicae fragrantis etheroleum*. Obsahuje nejméně 95,0 %, počítáno metodou normalizace.

Uchovává se v chladu a chráněn před světlem.

**Myristylalkohol R**C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>O $M_r$  214,4

CAS 112-72-1

1-Tetradekanol

$d_{20}^{20}$ : asi 0,823.

TT: 38 °C až 40 °C.

**Naftalen R**

$C_{10}H_8$   $M_r$  128,2 CAS 91-20-3

Bílé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, snadno rozpustné v etheru, dobře rozpustné v lihu 96%.

*TT*: asi 80 °C.

*Při použití pro kapalinovou scintilaci má odpovídající analytickou jakost.*

**Naftochinonsulfonan sodný R**

$C_{10}H_5NaO_5S$   $M_r$  260,2 CAS 521-24-4

Sodná sůl kyseliny 1,2-naftochinon-4-sulfonové

Žlutý až oranžovožlutý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

**Naftolbenzein R**

$C_{27}H_{20}O_3$   $M_r$  392,5 CAS 6948-88-5

$\alpha,\alpha$ -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 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 nebo 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 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 RSI**

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.

**Naftylethyldiamoniumdichlorid R** $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$  $M_r$  259,2

CAS 1465-25-4

N-(1-Naftyl)ethyldiamoniumdichlorid

Může obsahovat krystalový methanol.

Bílý až nažloutle bílý prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

**Natriumdeoxycholát R** $C_{24}H_{39}NaO_4$  $M_r$  414,6

CAS 302-95-4

Natrium-3 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\beta$ -cholan-24-oat**Natriumdokusát R**

Viz článek *Docusatium natricum*.

**Natriumlaurylsulfonat pro chromatografii R** $C_{12}H_{25}NaO_3S$  $M_r$  272,4

CAS 2386-53-0

Bílý nebo téměř bílý prášek nebo krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě.

 $A_{1\text{cm}}^{5\%}$ : asi 0,05 při 210 nm, $A_{1\text{cm}}^{5\%}$ : asi 0,03 při 220 nm, $A_{1\text{cm}}^{5\%}$ : asi 0,02 při 230 nm, $A_{1\text{cm}}^{5\%}$ : asi 0,02 při 500 nm,

měří se ve vodě R.

**Natriumrhodisonát R** $C_6Na_2O_6$  $M_r$  214,0

CAS 523-21-7

Dinatrium-3,4,5,6-tetraoxo-1-cyklohexen-1,2-diolát

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, slabého pachu po lilích a konvalinkách. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v glycerolu, míselný 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 % až 52 % hliníku (Al,  $A_r$  26,98) a 48 % až 52 % 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<sup>+</sup>

Bílý prášek, velmi hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě.

#### **Nikotinamid-adenin-dinukleotid RS**

40 mg *nikotinamid-adenin-dinukleotidu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml. Přípravuje se v čas potřeby.

#### **Ninhydrin R**

$C_9H_6O_4$

$M_r$  178,1

CAS 485-47-2

2,2-Dihydroxy-1,3-indandion

Bílý nebo velmi slabě žlutý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, těžce rozpustný v etheru.

Uchovává se chráněn před světlem.

#### **Ninhydrin RS**

Roztok *ninhydrinu R* (2 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny octové zředěné RS* a *1-butanolu R* (5 + 95).

#### **Ninhydrin RSI**

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 g ninhydrinu R se rozpustí ve 100 ml roztoku *disiřičitanu sodného R* (45,5 g/l).

**Ninhydrin RS3**

Roztok ninhydrinu R (4 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* a *1-butanolu R* (5 + 95).

**Nitroanilin R**

$C_6H_6N_2O_2$

$M_r$  138,1

CAS 100-01-6

4-Nitroanilin

Jasně žlutý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný ve vroucí vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v etheru. Se silnými minerálními kyselinami tvoří soli rozpustné ve vodě.

TT: asi 147 °C.

**Nitrobenzaldehyd R**

$C_7H_5NO_3$

$M_r$  151,1

CAS 552-89-6

2-Nitrobenzaldehyd

Žluté jehličky. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a dobře rozpustný v etheru, těká 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. Připravuje se v čas potřeby.

**Nitrobenzen R**

$C_6H_5NO_2$

$M_r$  123,1

CAS 98-95-3

Bezbarvá nebo velmi slabě žlutá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96% a etherem.

TV: asi 211 °C.

*Dinitrobenzen*. K 0,1 ml se přidá 5 ml *acetonu R*, 5 ml *vody R* a 5 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*. Protřepe se a nechá se stát. Horní vrstva je prakticky bezbarvá.

**Nitrobenzoylchlorid R**

$C_7H_4ClNO_3$

$M_r$  185,6

CAS 122-04-3

4-Nitrobenzoylchlorid

Žluté krystaly nebo krystalická hmota, rozpadávající se vlivem vlhkého vzduchu. Úplně se rozpouští v roztoku hydroxidu sodného za tvorby roztoku žlutooranžové barvy.

TT: asi 72 °C.

**Nitrobenzylchlorid R**

$C_7H_6ClNO_2$

$M_r$  171,6

CAS 100-14-1

4-Nitrobenzylchlorid

Světle žluté krystaly, slizotvorné, prakticky nerozpustné ve vodě, velmi snadno rozpustné v lihu 96% a v etheru.

**4-(4-Nitrobenzyl)pyridin R**

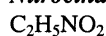
$C_{12}H_{10}N_2O_2$

$M_r$  214,2

CAS 1083-48-3

Žlutý prášek.

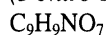
TT: asi 70 °C.

**Nitroethan R** $M_r$  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** $M_r$  243,2

CAS 92-55-7

Nitrofururaldiacetat; 5-nitrofurfulidendiacetat

Žluté krystaly.

TT: asi 90 °C.

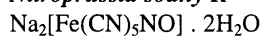
**Nitromethan R** $M_r$  61,0

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.

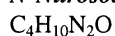
Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 100 °C až 103 °C.

**Nitroprussid sodný R** $M_r$  298,0

CAS 13755-38-9

Pentakyno-nitrosylželezitan sodný dihydrát

Červenohnědý prášek nebo krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

**N-Nitrosodiethanolamin R** $M_r$  134,1

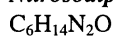
CAS 1116-54-7

2,2'-(Nitrosoimino)diethanol

Žlutá kapalina. Je mísitelný s ethanolem.

 $n_D^{20}$ : asi 1,485.

TV: asi 125 °C.

**Nitrosodipropylamin R** $M_r$  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** $C_{15}H_{11}ClN_2O$  $M_r$  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, DL-norleucin

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-hydroxypropan-2-ylamoniumchlorid

Krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě.

TT: 180 °C až 181 °C.

**Noskapiniumchlorid 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.

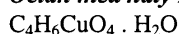
**Octan hořečnatý R** $C_4H_6MgO_4 \cdot 4H_2O$  $M_r$  214,5

CAS 16674-78-5

Octan hořečnatý tetrahydrát

Bezbarvé rozplývavé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

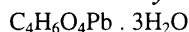
Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Octan měďnatý R** $M_r$  199,7

CAS 142-71-2

Octan měďnatý monohydrát

Modrozelené krystaly nebo prášek. Je snadno rozpustný ve vroucí vodě, dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, těžce rozpustný v etheru a v glycerolu (85 %).

**Octan olovnatý R** $M_r$  379,3

CAS 6080-56-4

Octan olovnatý trihydrát

Bezbarvé na vzduchu zvětvávající 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.

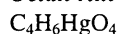
**Octan olovnatý zásaditý RS**

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.

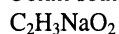
**Octan rtuťnatý R** $M_r$  318,7

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** $M_r$  82,0

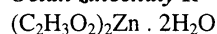
CAS 127-09-3

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.

**Octan sodný R**

Viz článek *Natrii acetat*.

**Octan zinečnatý R** $M_r$  219,5

CAS 5970-45-6

Octan zinečnatý dihydrát

Lesklé bílé krystaly, slabě zvětvávající. 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** $C_8H_{18}O$  $M_r$  130,2

CAS 111-87-5

1-Oktanol; n-kaprylalkohol

Bezbarvá kapalina, nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a etherem.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,828.

TV: asi 195 °C.

**3-Oktanon R** $C_8H_{16}O$  $M_r$  128,2

CAS 106-68-3

Ethylpentylketon

Bezbarvá kapalina s charakteristickým pachem.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,822. $n_D^{20}$ : asi 1,415.

TV: asi 167 °C.

*Při použití v plynové chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Lavandulae etheroleum*.

*Zkoušený roztok.* Zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % plochy všech píků získaných na chromatogramu.

**Oktansulfonan sodný R** $C_8H_{17}NaO_3S$  $M_r$  216,3

CAS 5324-84-5

Obsahuje nejméně 98,0 %  $C_8H_{17}NaO_3S$ .

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo vločky. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu.

*Absorbance* (2.2.25). Měří se roztok (54 g/l); absorbance při 200 nm není větší než 0,10 a při 250 nm není větší než 0,01.

**Oktoxinol 10 R** $C_{34}H_{62}O_{11}$  (průměrné složení) $M_r$  647

CAS 9002-93-1

 $\alpha$ -[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** $C_8H_{17}NaO_4S$  $M_r$  232,3

CAS 142-31-4

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo vločky. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu.

**Oleamid R** $C_{18}H_{35}NO$  $M_r$  281,5

CAS 301-02-0

(Z)-9-Oktadecenamid

Nažloutlý nebo bílý prášek nebo zrna. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v ethanolu.

TT: asi 80 °C.

**Olej kukuřičný R**

Viz článek *Maydis oleum raffinatum*.

**Olej olivový R**

Viz článek *Olivae oleum virginale*.

**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**

$C_7H_8O_2 \cdot H_2O$

$M_r$  142,2

CAS 6153-39-5

Monohydrát 5-methylbenzen-1,3-diolu; orcin

Krystalický prášek, citlivý na světlo.

TV: asi 290 °C.

TT: 58 °C až 61 °C.

**Oxid arsenitý R**As<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>O*M<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**

Viz článek *Algeldratum*.

**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

Nažloutlý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě.

**Oxid hořečnatý těžký R**

Viz článek *Magnesii oxidum ponderosum*.

**Oxid hořečnatý R**

Viz článek *Magnesii oxidum leve*.

**Oxid hořečnatý R1**

Vyhovuje požadavkům předepsaným pro *Oxid hořečnatý R* s následujícími modifikacemi:

*Arsen* (2.4.2). 0,5 g se rozpustí ve směsi 5 ml *vody R* a 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*. Roztok vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (2 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 nebo šedobílá zrna. Je hygroskopický, velmi snadno rozpustný ve vodě za tvorby HIO<sub>3</sub>.

*Stálost při zahřívání.* 2 g látky předem 1 h zahříváné 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 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 amorfní 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, dobře rozpustný ve zředěné kyselině dusičné za přítomnosti peroxidu vodíku, kyseliny šťavelové nebo jiných redukcujících 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 RI**

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 *Carboni dioxidum*.

**Oxid uhličitý RI**

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 dusnatý*. Méně než 1 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 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 žíháním*. Nejvýše 1,0 %; 1,00 g se žíhá 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 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**

0,2 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*. Líh se dekantuje a ke zbytku se přidá směs objemových dílů *lihu 96% R* a *vody R* (45 + 55). Nechá se stát 2 dny a potom se dekantuje čirá kapalina. Pásky filtračního papíru se impregnují tímto výluhem a nechají se vysušit.

*Zkouška citlivosti*. Páska o rozměru 10 mm x 60 mm se ponoří do směsi 10 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l RS* a 90 ml *vody R*. Za stálého míchání během 45 s papír zčervená.

**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**

0,2 g *nitrobenzaldehydu R* se rozpustí v 10 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (200 g/l). Tento roztok je použitelný 1 h.

Spodní polovina pásku z pomalého filtračního papíru o rozměru 10 cm x 0,8 cm až 1 cm se ponoří do roztoku a jeho přebytek se odstraní mezi dvěma filtračními papíry. Nitrobenzaldehydový papír je použitelný několik minut po přípravě.

**Papír s bromidem rtuťnatým R**

Do pravouhlé misky obsahující roztok *bromidu rtuťnatého R* (50 g/l) v *ethanolu R* se ponoří páska bílého filtračního papíru (hustota 80 g/m<sup>2</sup>, filtrační rychlost<sup>1)</sup> 40 s až 60 s) rozměr 1,5 x 20 cm (dvakrát složena). Páska se nechá okapat a vysušit ve tmě zavěšená na nekovovém vlákně. Odstříhne se 1 cm z každého přeloženého a protilehlého konce papíru, zbytek se stříhá na čtvercové (1,5 cm x 1,5 cm) nebo kruhové (průměr 1,5 cm) kousky.

Uchovává se v láhvích se skleněným uzávěrem, obalených černým papírem.

**Papír s červení Kongo R**

Proužky filtračního papíru se ponoří na několik minut do *červeně Kongo RS*. Potom se vysuší.

**Papír se zelení methylovou R**

Úzké pásky vhodného filtračního papíru se ponoří do roztoku *zeleně methylové R* (40 g/l) a potom se vysuší volně na vzduchu. Pak se impregnují 1 h roztokem obsahujícím *jodid draselný R* (140 g/l) a *jodid rtuťnatý R* (200 g/l). Pásky se promývají *vodou destilovanou R*, až je lázeň prakticky bezbarvá, a vysuší se volně na vzduchu.

Uchovává se chráněn před světlem, je použitelný 48 h.

<sup>1)</sup> Filtrační rychlost je vyjádřena dobou v sekundách, ve které se přefiltruje 100 ml vody při 20 °C přes filtrační plochu 10 cm<sup>2</sup> za konstantního tlaku 6,7 kPa.

**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 žluti titanové RS. Potom se vysuší při pokojové teplotě.

**Papír s fenolftaleinem R**

Pásy filtračního papíru se ponoří na několik minut do fenolftaleinu RS a nechají se vysušit.

**Papír s octanem olovnatým R**

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.

**Papír škrobový s jodidem draselným R**

Pásy filtračního papíru se ponoří do 100 ml škrobu RS obsahujícího 0,5 g jodidu draselného R. Nechá se okapat a za chránění před světlem usušit.

*Zkouška citlivosti.* 0,05 ml dusitanu sodného 0,01 mol/l VS se smíchá se 4 ml kyseliny chlorovodíkové R a zředí se vodou R na 100 ml. Jedna kapka tohoto roztoku se nanese na papír škrobový s jodidem draselným; objeví se modrá skvrna.

**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 uhličitan 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 ropy, bělená, prakticky nerozpustná ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustná v etheru a v etheru petrolejovém R1. Roztoky někdy vykazují mírnou opalescenci.

**Parafin tekutý R**

Viz článek *Paraffinum liquidum*.

**Pararosaniliniumchlorid R**

C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>

M<sub>r</sub> 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**

0,1 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.

**Parthenolid R** $C_{15}H_{20}O_3$  $M_r$  248,3

CAS 20554-84-1

(4*E*)-(1*aR*,7*aS*,10*aS*,10*bS*)-1*a*,5-Dimethyl-8-methylen-2,3,6,7,7*a*,8,10*a*,10*b*-oktahydro-oxireno-[9,10]cyklodeka[1,2-*b*]furan-9(1*aH*)-on; (*E*)-(5*S*,6*S*)-4,5-Epoxygermakra-1(10), 11(13)-dieno-12(6)-lakton

Bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v methanolu.

$[\alpha]_D^{25}$ : -71,4°; stanoví se s roztokem v dichlormethanu *R* (2,2 g/l).

*TT*: 115 °C až 116 °C.

*Absorbance* (2.2.25). Roztok v lihu 96% *R* (0,01 g/l) vykazuje absorpční maximum při 214 nm.

*Stanovení obsahu*. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29) za podmínek uvedených v článku *Tanacetii parthenii herba* při koncentraci porovnávacího roztoku. Obsahuje nejméně 90 %, počítáno metodou normalizace.

**Penicilinasa 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 síranu hořečnatého *R* se rozpustí v 5 ml vody *R*, přidá se 1 ml roztoku síranu amonno-železnatého *R* (1,6 g/l), potom se zředí vodou *R* na 10 ml. Oba roztoky se sterilizují v autoklávu, ochladí se a smíchají. Směs se rozdělí do kuželových baněk v dostatečné vrstvě a naočkuje se *Bacillus cereus* (NCTC 9946). Baňky se nechají v klidu při 18 °C až 37 °C až do prvních známek růstu a udržují se 16 h při 35 °C až 37 °C za neustálého protřepávání a provzdušňování. Směs se odstředí a supernatantní kapalina se sterilizuje membránovou filtrací. 1,0 ml roztoku penicilinasy obsahuje při 30 °C a pH 7,0 nejméně 0,4 mikrokatalu (což odpovídá hydrolyze 500 mg benzylpenicilinu na kyselinu benzylpenicilovou za hodinu) za předpokladu, že koncentrace benzylpenicilinu neklesne pod úroveň potřebného enzymatického nasycení. Michaelisova konstanta 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 ethanolem a etherem.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,63.

$n_D^{20}$ : asi 1,359.

*TV*: asi 36 °C.

*Při použití pro spektrofotometrii vyhovuje následujícímu dodatečnému požadavku:*

*Transmittance* (2.2.25): nejméně 20 % při 200 nm,  
nejméně 50 % při 210 nm,  
nejméně 85 % při 220 nm,  
nejméně 93 % při 230 nm,  
nejméně 98 % při 240 nm,

měří se proti vodě *R* jako kontrolní kapalině.

**Pentanol R** $C_5H_{12}O$  $M_r$  88,1

CAS 71-41-0

1-Pentanol

Bezbarvá kapalina, mírně rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 $n_D^{20}$ : asi 1,410.

TV: asi 137 °C.

**Pentansulfonan sodný R** $C_5H_{11}NaO_3S$  $M_r$  174,2

CAS 22767-49-3

Bílá krystalická pevná látka, dobře rozpustná ve vodě.

**Pentansulfonan sodný monohydrát R** $C_5H_{11}NaO_3S \cdot H_2O$  $M_r$  192,2

Bílá krystalická pevná látka. Je dobře rozpustný ve vodě.

**Pepsin práškový R**Viz článek *Pepsini pulvis*.**Permethrin R** $C_{21}H_{20}Cl_2O_3$  $M_r$  391,3

CAS 52645-53-1

TT: 34 °C až 35 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**Perylen R** $C_{20}H_{12}$  $M_r$  252,3

CAS 198-55-0

Dibenz(de,kl)anthracen

Oranžový prášek.

TT: asi 279 °C.

**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*.

**Picein R**C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub>M<sub>r</sub> 298,3

CAS 530-14-3

1-[4-(β-D-Glucopyranosyloxy)fenyl]ethanon; p-(acetylfenyl)-β-D-glukopyranosid

TT: 194 °C až 195 °C.

**α-Pinen R**C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>M<sub>r</sub> 136,2

CAS 80-56-8

2,6,6-Trimethylbicyklo[3,1,1]-hept-2-en

Kapalina nemísitelná s vodou.

d<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,859.n<sub>D</sub><sup>20</sup>: 1,466.

TV: 154 °C až 156 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:**Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) postupem uvedeným v článku *Aurantii amari floris etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 99,0 % celkové plochy píků.

**β-Pinen R**C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,867.n<sub>D</sub><sup>20</sup>: 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 píků.

**Piperazin hexahydrát R**Viz článek *Piperazinum hexahydricum*.**Piperidin R**C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>NM<sub>r</sub> 85,2

CAS 110-89-4

Hexahydropyridin

Bezbarvá až slabě žlutá kapalina, alkalické reakce, mísitelná s vodou, s lihem 96%, s etherem a s etherem petrolejovým.

TV: asi 106 °C.

**Pirimifos-ethyl R**C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>PSM<sub>r</sub> 333,4

CAS 23505-41-1

TT: 15 °C až 18 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**Písek R**

Bílá nebo slabě našedlá 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, ve druhém případě se může substrát plazmy připravit do 2 dní po odběru.

Uchovává se při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Plazma substrát RI**

*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  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Po ochlazení se krev ze všech láhví smíchá, s výjimkou krve, která projevuje zjevnou hemolýzu nebo sraženinu. Smíchaná krev se uchovává při teplotě  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Tak brzo, jak je to možné, a do 4 h po odběru se smíchaná krev odstředuje 30 min při  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  při 1000  $g_n$  až 2000  $g_n$ . Supernatantní kapalina se oddělí a odstředuje se 30 min při 5000  $g_n$ . (Na vyčevení plazmy se může použít rychlejší odstředování, např. při 20 000  $g_n$  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  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  (např. ponořením do tekutého dusíku) a uchovávají se při teplotě nižší než  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Plazma připravená za těchto podmínek se může použít jako substrát plazmy na stanovení heparinu tehdy, když se za podmínek stanovení u použité metody naměří vhodný čas srážení a jestliže dává reprodukovatelnou strmou křivku - odpovídá log dávky.

V čas potřeby se určité množství substrátu plazmy rozmrazí ve vodní lázni při  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  za pomalého míchání až do úplného rozmrazení. Jednou rozmrazená plazma se udržuje při  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  a ihned se použije. Je-li to nutné, může se rozmrazený substrát plazmy mírně odstředit a filtrace se nepoužije.

**Plazma substrát RS2**

Oddělená plazma z lidské krve, která byla odebrána a smíchána s roztokem *citronanu sodného R* (38 g/l) v objemovém poměru 9 : 1 a u které je hodnota faktoru IX nižší než 1 % normální hodnoty.

Uchovává se v malých množstvích ve zkumavkách z plastů při teplotě  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  nebo nižší.

**Plazma chudá na krevní destičky R**

Odebere se 45 ml lidské krve 50ml injekční stříkačkou z plastů do 5,0 ml sterilního roztoku *citronanu sodného R* (38 g/l). Ihned se odstředuje 30 min při 1550  $g_n$  a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Injekční stříkačkou z plastů se odeberou dvě třetiny supernatantní kapaliny a ihned se odstředuje 30 min při 3500  $g_n$  a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Injekční stříkačkou z plastů se odeberou dvě třetiny supernatantní kapaliny, která se rychle zmrazí ve vhodném množství ve zkumavkách z plastů na  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  nebo nižší teplotu. Při přípravě se používají pomůcky z plastů nebo potažené silikonem.

**Plazma králíčí R**

Krev se odebere intrakardiální punkcí z králíka hladovějícího 12 h za použití injekční stříkačky z plastů s kanylou č. 1 obsahující takové množství roztoku *citronanu sodného R* (38 g/l), aby konečný poměr objemů roztoku citronanu a krve byl 1 : 9. Plazma se oddělí při  $15\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  odstředováním 30 min při 1500  $g_n$  až 1800  $g_n$ .

Uchovává se při  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Použije se během 4 h po přípravě.



**Plazma substrát prostá 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, potom se plazma 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 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 stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. 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.

*Infracervené absorpční 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  $350\text{ °C}$ . Nejvýše 0,8 %; 2,000 g se suší 2 h při  $200\text{ °C}$ .

***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 % methylových skupin.

***Poly(fenyl)(7)(kyanpropyl)(7)(methyl)(86)siloxan R***

Polysiloxan substituovaný 7 % fenylových skupin, 7 % kyanpropylových skupin a 86 % methylových skupin.

Stacionární fáze pro plynovou chromatografii.

***Poly[fenyl(5)methyl(94)vinyl(1)]siloxan R***

Polysiloxan obsahující 5 % fenylových skupin, 94 % methylových skupin a 1 % vinylových skupin.

***Poly[fenyl(5)methyl(95)]siloxan R***

Viz odstavec *Poly(difenyl)(dimethyl)siloxan R*.

***Poly(fenylmethyl)(kyanpropyl)siloxan R***

90 % kyanpropylových a 10 % fenylmethylových skupin.

Stacionární fáze pro plynovou chromatografii.

***Polyfenylmethylosiloxan R***

Střední  $M_r$  4000. Obsahuje 50 % methylových 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 % kyanethylových skupin a 75 % methylových skupin.

Stacionární fáze pro plynovou chromatografii (např. XE 60). Náhradní fáze může být např. OV-225 [poly(kyanpropylmethyl)(fenyl)(methyl)siloxan].

***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  $9000\text{ mPa}\cdot\text{s}$ ).

$d_{25}^{25}$ : 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

Červeň 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.

**I-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 % předestiluje při 96 °C až 99 °C.

**2-Propanol R** $C_3H_8O$  $M_r$  60,1

CAS 67-63-0

Isopropylalkohol

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, mísitelná s vodou a lihem 96%.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,785.

TV: 81 °C až 83 °C.

**2-Propanol RI**

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.

Transmittance (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.

**Propetamfos R** $C_{10}H_{20}NO_4PS$  $M_r$  281,3

CAS 31218-83-4

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**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

CAS 75-56-9

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 pevné látky.

**Pryskyřice pro iontovou chromatografii s reverzními fázemi R**

Neutrální makroporézní plocha o vysokém specifickém povrchu s pryskyřicí nepolárního charakteru skládající se z polymerní mřížky polystyrenu zesíťovaného s divinylbenzenem.

**Pryskyřice pro iontovou vylučovací chromatografii R**

Pryskyřice se skupinami kyseliny sulfonové navázané na polymerní mřížku z polystyrenu zesíťovaného s divinylbenzenem.

**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** $C_{21}H_{18}O_5S$  $M_r$  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 uhlíčitánem 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 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.

**4-(2-Pyridylazo)resorcinol monosodná sůl R** $C_{11}H_8N_3NaO_2 \cdot H_2O$  $M_r$  255,2

CAS 16593-81-0

**Pyrogallol R** $C_6H_6O_3$  $M_r$  126,1

CAS 87-66-1

1,2,3-Benzentriol; 1,2,3-trihydroxybenzen

Bílé krystaly hnědnoucí na vzduchu a na světle, velmi snadno rozpustné ve vodě, v lihu 96% a etheru, těžce rozpustné v siruhlíku. Na vzduchu hnědnou absorpcí kyslíku vodné roztoky a ještě rychleji roztoky alkalické.

TT: asi 131 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Pyrogallol zásaditý RS**

0,5 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 uhličitanem amonným.

**Reineckova sůl R** $NH_4[Cr(NH_3)_2(NCS)_4] \cdot H_2O$  $M_r$  354,4

CAS 13573-16-5

Diammin-tetrakis(isothiokyanatano)chromitan amonný monohydrát

Červený prášek nebo krystaly. Je mírně rozpustný ve studené vodě, dobře rozpustný v horké vodě a v lihu 96%.

**Reineckova sůl RS**

Roztok 10 g/l. 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<sub>3</sub>).**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<sub>4</sub> $M_r$  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.

**Rohovníková moučka R**

Je to mletý endosperm semen plodu *Ceratonía siliqua* L. TAUB.

Bílý prášek obsahující 70 % až 80 % vodou dobře rozpustné klovatiny, která obsahuje většinou galaktomannoglykon.

**Rozpouštědlo hyaluronidasy R**

100 ml *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 6,4* se smíchá se 100 ml *vody R*. V tomto roztoku se rozpustí při 37 °C 0,140 g *želatiny hydrolyzované R*. Roztok je použitelný 2 h.

**Roztok pro test způsobilosti pro TLC RS**

Připraví se směs po 1,0 ml od každého z následujících roztoků a doplní se *acetonem R* na 10,0 ml: roztok *červeně sudanové G R* (0,5 g/l) v *toluenu R*, roztok *oranže methylové sodné soli R* (0,5 g/l) v *ethanolu R* připravený v čas potřeby, roztok *zeleně bromkresolové R* (0,5 g/l) v *acetonu R* a roztok *červeně methylové R* (0,25 g/l) v *acetonu R*.

**Rtuť R**

Hg A<sub>r</sub> 200,6 CAS 7439-97-6

Stříbrobílá 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.



**Safrol R** $C_{10}H_{10}O_2$  $M_r$  162,2

CAS 94-59-7

5-(Prop-2-enyl)-1,3-benzodioxol; 4-allyl-1,2-(methylenedioxy)benzen

Bezbarvá nebo světle žlutá kapalina, pachu po sassafrasu. Je nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v lihu 96%, mísitelný s hexanem.

 $d_{20}^{20}$ : 1,095 až 1,096 $n_D^{20}$ : 1,537 až 1,538.

TV: 232 °C až 234 °C.

Teplota tuhnutí: asi 11 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Cinnamomi zeylanici corticis etheroleum*. Obsahuje nejméně 96,0 %, počítáno metodou normalizace.

**Salicin R** $C_{13}H_{18}O_7$  $M_r$  286,3

CAS 138-52-3

2-(Hydroxymethyl)fenyl- $\beta$ -D-glukopyranosid; salikosid $[\alpha]_D^{20}$ :  $-(62,5 \pm 2)^\circ$ .

TT: 199 °C až 201 °C.

*Stanovení obsahu.* Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za podmínek uvedených v článku *Salicis cortex* při koncentraci porovnávacího roztoku. Obsahuje nejméně 99,0 %, počítáno metodou normalizace.

**Salicylaldazin 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**

0,1 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** $C_{15}H_{18}O_3$  $M_r$  246,3

CAS 481-06-1

 $\alpha$ -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 ve 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* a 50 mg *modři bromfenolové R* se rozpustí ve vodě *R*. Přidá se 25,0 ml *glycerolu R* a zředí se vodou *R* na 100 ml. 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* a 100 mg *modři bromfenolové R* se rozpustí ve vodě *R*. Přidá se 50,0 ml *glycerolu R*, zředí se vodou *R* na 200 ml a 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* a 100 mg *modři bromfenolové R* se rozpustí ve vodě *R*. Přidá se 50,0 ml *glycerolu R* a zředí se vodou *R* na 200 ml. 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

 $A_r$  79,0

CAS 7782-49-2

Hnědočervený až černý prášek nebo zrna. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustný v kyselině dusičné.

*TT*: asi 220 °C.**Serin 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 amorfnní 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 RI**

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 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  $\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ .

*Hodnota pH (2.2.3).* Asi 7; měří se suspenze připravená třepáním 1 g s 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* po dobu 5 min.

#### **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.* Provede 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 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 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 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> 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 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 z důvodu svého hydrofobního charakteru.

*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 0,1 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. Po ochlazení se obsah baňky převede pomocí 100 ml *vody R* do dělicí

nálevky, okyselí se (pH 2 až 3) *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* a směs se vytřepe třikrát s 10 ml *chloroformu R*. Chloroformové vrstvy se spojí, vysuší se *síranem sodným bezvodým R*, zfiltrují se a odpaří do sucha na vodní lázni. Zbytek po odpaření se rozpustí v 50 ml *chloroformu R*. Z tohoto roztoku se nanese po 10  $\mu$ l 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 hydrofilní pro chromatografii R**

Je to velmi jemný silikagel s částicemi (3  $\mu$ m až 10  $\mu$ m) 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.

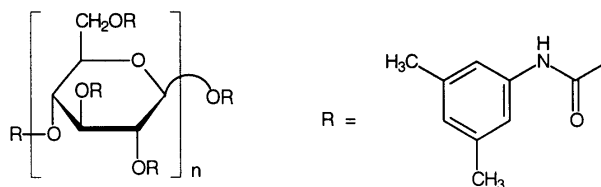
#### **Silikagel nitrilovaný pro chromatografii R2**

Ultračistý silikagel na povrchu chemicky upravený navázáním kyanpropylsilanových skupin. Obsahuje nejvýše 20  $\mu$ g/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  $\mu$ m) na povrchu chemicky upravený navázáním následujících skupin:



#### **Silikagel oktadecylsilanizovaný deaktivovaný pro chromatografii bazických látek R**

Velmi jemný silikagel (3  $\mu$ m až 10  $\mu$ 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 ultračistý silikagel, na povrchu chemicky upravený navázáním oktadecylsilanových skupin. Velikost částic, velikost pórů a obsah uhlíku jsou uvedeny v závorce za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky. 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  $\mu\text{m}$  až 10  $\mu\text{m}$ ) na povrchu chemicky upravený navázáním oktylsilanových a methylových skupin (dvojitě navázaná fáze). Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

***Silikagel oktylsilanizovaný pro chromatografii R2***

Velmi jemný (velikost pórů 10 nm) ultračistý silikagel, na povrchu chemicky upravený navázáním oktylsilanových skupin (obsah uhlíku 19 %). Obsah kovů méně než 20  $\mu\text{g/g}$ .

**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 oktylsilanizovaný deaktivovaný pro chromatografii bazických látek R**

Je to velmi jemný silikagel (3 µm až 10 µm) na povrchu chemicky upravený před navázáním oktylsilanových 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 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**

$C_{20}H_{20}O_7$

3',4',5,6,7-Pentamethoxyflavon

$M_r$  372

CAS 2306-27-6

**Síra R**

Viz článek Sulfur ad usum externum.

**Síran amonno-železitý R**

$FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$

Síran amonno-železitý dodekahydrát

$M_r$  482,2

CAS 7783-83-7

Světle fialové krystaly, zvětrávající, velmi snadno rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

**Síran amonno-železitý RS2**

Roztok síranu amonno-železitého R (100 g/l). V případě potřeby se před použitím filtruje.

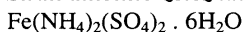
**Síran amonno-železitý RS5**

30,0 g síranu amonno-železitého R se třepe se 40 ml kyseliny dusičné R a zředí se vodou R na 100 ml. Pokud je roztok zakalený, odstředí se nebo filtruje.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Síran amonno-železitý RS6**

20 g síranu amonno-železitého R se rozpustí v 75 ml vody R, přidá se 10 ml roztoku kyseliny sírové R 2,8% (V/V) a zředí se vodou R na 100 ml.

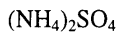
**Síran amonno-železnatý R** $M_r$  392,2

CAS 7783-85-9

Síran amonno-železnatý hexahydrát

Světle modrozelené krystaly nebo zrna. Je snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Síran amonný R** $M_r$  132,1

CAS 7783-20-2

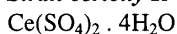
Bezbarvé krystaly nebo bílá zrna. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu a v lihu 96%.

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 6,0; měří se roztok (50 g/l) ve vodě prosté oxidu uhličitého R.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %.

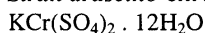
**Síran barnatý R**

Viz článek *Barii sulfas*.

**Síran ceričitý R** $M_r$  404,3

CAS 123333-60-8

Žlutý nebo oranžově žlutý krystalický prášek nebo krystaly. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, pomalu se rozpouští ve zředěných kyselinách.

**Síran draselno-chromitý R** $M_r$  499,4

CAS 7788-99-0

Síran draselno-chromitý dodekahydrát

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** $M_r$  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 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 sodný dekahydrát R**Viz článek *Natrii sulfas decahydricus*.**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 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.

**Sírouhlík 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*. Rostok 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. Rostok je bezbarvý.

Připravuje se v čas potřeby.

**Směs redukční R**

K získání homogenní směsi se v následujícím pořadí rozetře 20 mg *bromidu draselného R*, 0,5 g *hydraziniumsulfatu R* a 5 g *chloridu sodného R*.

**Sodík R**

Na A<sub>r</sub> 22,99 CAS 7440-23-5

Kov, jehož povrch po čerstvém řezu se šedostříbrně leskne. Při přímém styku se vzduchem rychle oxiduje na hydroxid sodný a potom se mění na uhličitán sodný. Sodík reaguje prudce s vodou, přičemž se uvolňuje vodík a tvoří se roztok hydroxidu sodného. Sodík je dobře rozpustný v bezvodém methanolu za tvorby vodíku a roztoku methanolatu sodného; prakticky je nerozpustný v etheru a etheru petrolejovém. Uchovává se pod etherem petrolejovým nebo tekutým parafinem.

**Sodná sůl kyseliny glukuronové R**

C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NaO<sub>7</sub> · H<sub>2</sub>O M<sub>r</sub> 234,1 CAS 14984-34-0

Monohydrát sodné soli kyseliny D-glukuronové

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: asi +21,5°, měří se roztok (20 g/l).

**Sodná sůl sacharinu R**

Viz článek *Saccharinum natricum*.

**Sorbitol R**

Viz článek *Sorbitolum*.

**Squalan R**

C<sub>30</sub>H<sub>62</sub> M<sub>r</sub> 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<sub>20</sub><sup>20</sup>: 0,811 až 0,813.

n<sub>D</sub><sup>20</sup>: 1,451 až 1,453.

**Stabilizátor polymerů R1**

C<sub>50</sub>H<sub>66</sub>O<sub>8</sub> M<sub>r</sub> 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<sub>54</sub>H<sub>78</sub>O<sub>3</sub> M<sub>r</sub> 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]undekan (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)benz磺onamid

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 amonný RS**

120 ml *amoniaku zředěného RS1* se nasýtí *sirovodíkem R* a přidá se 80 ml *amoniaku zředěného RS1*. Připravuje se v čas potřeby.

**Sulfid sodný R** $Na_2S \cdot 9H_2O$  $M_r$  240,2

CAS 1313-84-4

Bezbarvé rychle žloutnoucí roztékající se krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Sulfid sodný RS**

12 g *sulfidu sodného R* se rozpustí za zahřívání v 45 ml směsi objemových dílů *vody R* a *glycerolu 85% R* (10 + 29). Po ochlazení se stejnou směsí zředí na 100 ml. Roztok je bezbarvý.

**Škrob rozpustný R**

CAS 9005-84-9

Bílý prášek.

Roztok (20 g/l) v horké *vodě R* nejvýše slabě opalizuje a po ochlazení zůstane tekutý.**Škrob RS**

1,0 g *škrobu rozpustného R* se rozmíchá v 5 ml *vody R* a směs se za míchání vleje do 100 ml vroucí *vody R* obsahující 10 mg *jodidu rtuťnatého R*.

Před každým použitím se provede zkouška citlivosti.

*Zkouška citlivosti*. Směs 1 ml roztoku škrobu, 20 ml *vody R*, asi 50 mg *jodidu draselného R* a 0,05 ml *jodu RS1* je zbarvena modře.

**Škrob RS1**

1 g *škrobu rozpustného R* se smíchá s malým množstvím studené *vody R*. Tato směs se za míchání přidá k 200 ml vroucí *vody R*. Přidá se 250 mg *kyseliny salicylové R* a povaří se 3 min. Ihned se přeruší zahřívání a roztok se ochladí.

Pokud je nutné dlouhodobé uchování, 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.

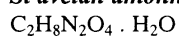
**Škrob s jodidem draselným RS**

0,75 g *jodidu draselného R* se rozpustí ve 100 ml *vody R*. Zahřeje se k varu, za míchání se přidá 0,5 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.

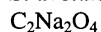
**Šřavelan amonný R** $M_r$  142,1

CAS 6009-70-7

Bezbarvé krystaly, dobře rozpustné ve vodě.

**Šřavelan amonný RS**

Roztok 40 g/l.

**Šřavelan sodný R** $M_r$  134,0

CAS 62-76-0

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96% a etheru.

**Tagatosa R** $M_r$  180,16

CAS 87-81-0

D-lyxo-Hexulosa

Bílý prášek.

 $[\alpha]_D^{20}$  : -2,3°; roztok (21,9 g/l) ve vodě R.

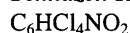
TT: 134 °C až 135 °C.

**Tanin R**

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.

**Teknazen R** $M_r$  260,9

CAS 117-18-0

TT: 99 °C až 100 °C.

TV: asi 304 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v cyklohexanu).

**Terc.amylalkohol R** $M_r$  88,1

CAS 75-85-4

Terc.pentylalkohol, 2-methyl-2-butanol

Těkává hořlavá kapalina. Je snadno rozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96%, s etherem a s glycerolem.

 $d_{20}^{20}$  : asi 0,81.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 100 °C až 104 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

**Terc.butanol R**

Viz odstavec Terc.butylalkohol R.

**Terc.butylalkohol R** $M_r$  74,1

CAS 75-65-0

2-Methyl-2-propanol

Čirá bezbarvá kapalina nebo krystalická hmota. Je dobře rozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96% a s etherem.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 81 °C až 83 °C.

Teplota tuhnutí (2.2.18). Asi 25 °C.

**Terc.butylamin R** $C_4H_{11}N$  $M_r$  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.

Transmitance (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.butylmethylether RI**Obsahuje nejméně 99,5 %  $C_5H_{12}O$ . $d_{20}^{20}$ : asi 0,741. $n_D^{20}$ : asi 1,369.

TV: asi 55 °C.

**Terc.pentylalkohol R** $C_5H_{12}O$  $M_r$  88,1

CAS 75-85-4

Terc.amylalkohol; 2-methyl-2-butanol

Těkává 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.

 **$\alpha$ -Terpineol R** $C_{10}H_{18}O$  $M_r$  154,2

CAS 98-55-5

(RS)-2-(4-Methyl-3-cyklohexenyl)-2-propanol

Může obsahovat 1 % až 3 %  $\beta$ -terpineolu.

Bezbarvé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96% a v etheru.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,935. $n_D^{20}$ : asi 1,483. $[\alpha]_D^{20}$ : asi +92,5°.

TT: asi 35 °C.



*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Anisi etheroleum*.  
*Zkoušený roztok.* Roztok (100 g/l) v hexanu R.

Plocha hlavního píku je nejméně 97,0 % 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

Olejovitá kapalina.

*d*<sub>4</sub><sup>15</sup>: asi 0,850.

*n*<sub>D</sub><sup>15</sup>: 1,474 až 1,475.

*TV*: 183 °C až 186 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) postupem uvedeným v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku odpovídajícího *γ*-terpinenu je nejméně 93,0 % celkové plochy píků.

#### **Terpinen-4-ol R**

C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O

*M*<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*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,934.

*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: 1,477.

*TV*: 209 °C až 212 °C.

*Při použití v plynové chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

*Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Lavandulae etheroleum*.

*Zkoušený roztok.* Zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % plochy všech získaných píků na chromatogramu.

#### **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<sub>16</sub>H<sub>36</sub>BrN

*M*<sub>r</sub> 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

Bílý 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 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

Bílé krystaly.

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 nedediluje.*

*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.

#### **Tetrachlorvinfos R**

$C_{10}H_9Cl_4O_4P$

$M_r$  366,0

CAS 22248-79-9

*TT:* asi 95 °C.

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v trimethylpentanu).

#### **Tetrachlormethan R**

Viz odstavec *Chlorid uhličitý R*.

#### **Tetraiodotluňatan 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.

#### **Tetraiodotluňatan 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**

$C_4H_{13}NO \cdot 5H_2O$

$M_r$  181,2

CAS 10424-65-4

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.

**Tetramethylbenzidin R**

$C_{16}H_{20}N_2$   $M_r$  240,3 CAS 54827-17-7

3,3',5,5',-Tetramethylbifenyl-4,4'-diamin

Prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi dobře rozpustný v methanolu.

*TT:* asi 169 °C.

**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 odstupě 59,1 Hz po obou stranách hlavního signálu tetramethylsilanu.

**Tetraoxalat draselný R**

Viz odstavec *Kalium tetraoxalat R*.

**Tetrakisulfatoceričitan 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  $\mu\text{l}$  roztoku (0,5 g/l) do pruhu 3 mm  $\times$  20 mm. Na získaném chromatogramu se objeví oranžově červený nebo červený hlavní pruh s  $R_F$  asi 0,5.

**Theobromin R**

Viz článek *Theobrominum*.

**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**

$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}$

$M_r$  122,2

CAS 111-48-8

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 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 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**

0,3 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<sub>10</sub>H<sub>16</sub>O

M<sub>r</sub> 152,2

CAS 546-80-5

1-Isopropyl-4-methylbicyclo[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°.

TV: asi 200 °C.

**Thymin R**

C<sub>5</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

M<sub>r</sub> 126,1

CAS 65-71-4

5-Methylpyrimidin-2,4(1H,3H)-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<sub>28</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>

M<sub>r</sub> 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 roztocích alkalických hydroxidů.

**Thymolftalein RS**

Roztok (1 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<sub>r</sub> 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: asi 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 RSI**

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 5min stání se 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-Methylbensulfonamid, toluensulfonamid

Bílý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě a v etheru, dobře rozpustný v lihu 96% a v roztocích alkalických hydroxidů.

*TT*: asi 136 °C.

*Chromatografie.* Zkouší se za stejných podmínek a ve stejné koncentraci předepsané v článku *Tolbutamidum*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

***o-Toluidin R***C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N*M<sub>r</sub>* 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*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 1,01.*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: asi 1,569.*TV*: asi 200 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

***p-Toluidin R***C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>N*M<sub>r</sub>* 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<sub>7</sub>H<sub>10</sub>ClN*M<sub>r</sub>* 143,6

CAS 636-21-5

2-Methylaniliniumchlorid; 2-toluidiniumchlorid

Obsahuje nejméně 98,0 % C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>ClN.

*TT*: 215 °C až 217 °C.***Tosylargininiummethylesterchlorid R***C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>4</sub>S*M<sub>r</sub>* 378,9

CAS 1784-03-8

L-1-[4-(Methoxykarbonyl)-4-(tosylamido)butyl]guanidiniumchlorid

*[α]*<sub>D</sub><sup>20</sup>: -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 roztuštění. Po přidání 2,5 ml *červeně methylové směsného indikátoru RS* se zředí *vodou R* na 25,0 ml.

***Tosylfenylalanylchlormethan R***C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>3</sub>S*M<sub>r</sub>* 351,9

CAS 402-71-1

(S)-1-Chlor-4-fenyl-3-(tosylamido)-2-butanon

*[α]*<sub>D</sub><sup>20</sup>: -85° až -89°; měří se roztok (10 g/l) v *lihu 96% R*.*A*<sub>1cm</sub><sup>1%</sup>: 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

 $[\alpha]_D^{20}$ :  $-7^\circ$  až  $-9^\circ$ ; měří se roztok (20 g/l). $A_{1cm}^{1\%}$ : 310 až 340; měří se roztok při 230 nm ve vodě R.TT: asi  $155^\circ C$ , za rozkladu.**Toxafen R**

CAS 8001-35-2

Směs polychlorovaných derivátů

TT:  $65^\circ C$  až  $90^\circ C$ .

Může se použít vhodný certifikovaný porovnávací roztok (10 ng/μl v trimethylpentanu).

**Tragant R**Viz článek *Tragacantha*.**Triacetin R** $C_9H_{14}O_6$  $M_r$  218,2

CAS 102-76-1

Glyceroltriacetat

Bezbarvá až nažloutlá, téměř čirá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,16. $n_D^{20}$ : asi 1,43.TV: asi  $260^\circ C$ .**Triamcinolon R** $C_{21}H_{27}FO_6$  $M_r$  394,4

CAS 124-94-7

9-Fluor-11β,16α,17,21-tetrahydroxy-1,4-pregnadien-3,20-dion

Krystalický prášek.

TT:  $262^\circ C$  až  $263^\circ C$ .**Triamcinolonacetonid R**Viz článek *Triamcinoloni acetonidum*.**Triethanolamin R** $C_6H_{15}NO_3$  $M_r$  149,2

CAS 102-71-6

2,2',2''-Nitrilotriethanol

Bezbarvá viskózní velmi hygroskopická kapalina, která působením vzduchu a světla hnědne. Je mísitelná s vodou, s acetonem, s lihem 96%, s glycerolem 85% a s methanolem.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,13.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

**Triethylamin R** $C_6H_{15}N$  $M_r$  101,2

CAS 121-44-8

N,N-Diethylethanamin

Bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě při teplotě pod  $18,7^\circ C$ , mísitelná s lihem 96% a etherem. $d_{20}^{20}$ : asi 0,727. $n_D^{20}$ : asi 1,401.TV: asi  $90^\circ C$ .

**Triethylendiamin R** $C_6H_{12}N_2$  $M_r$  112,2

1,4-Diazabicyklo[2,2,2]oktan

Velmi hygroskopické krystaly, které při pokojové teplotě snadno sublimují, snadno se rozpouštějí ve vodě, v acetonu a v ethanolu.

TT: asi 158 °C.

TV: asi 174 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Triethylfosfonoforniat R** $C_7H_{15}O_5P$  $M_r$  210,2

CAS 1474-78-8

Ethyl-(diethoxyfosforyl)formiat

Bezbarvá kapalina.

TV<sub>12mm</sub>: asi 135 °C.**Trifenylmethanol R** $C_{19}H_{16}O$  $M_r$  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 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** $M_r$  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** $M_r$  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** $M_r$  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 % předestiluje při 47 °C až 48 °C.

**Trikosan R** $M_r$  324,6

CAS 638-67-5

Bílé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v etheru a v hexanu.

 $n_D^{20}$ : asi 1,447.

TT: asi 48 °C.

**Trimethylchlorsilan R**Viz odstavec *Chlortrimethylsilan R*.**Trimethylpentan R** $M_r$  114,2

CAS 540-84-1

2,2,4-Trimethylpentan, isooktan

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:

Transmitance (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 RSI***100 ml nasyceného roztoku *trinitrofenolu R* se smíchá s 0,25 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*.***Tris(kyanethoxy)propan R*** $C_{12}H_7N_3O_3$  $M_r$  251,3

1,2,3-Tris(2-kyanethoxy)propan

Viskózní hnědožlutá kapalina, dobře rozpustná v methanolu. Používá se jako stacionární fáze v plynové chromatografii.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,11.

Viskozita (2.2.9). asi 172 mPa.s.

***Trombin hovězí R***

CAS 9002-04-4

Enzymatický přípravek získaný z hovězí plazmy, který mění fibrinogen na fibrin. Žlutobílý prášek.

Uchovává se při teplotě pod 0 °C.

***Trombin lidský R***

CAS 9002-04-4

Vysušený lidský trombin je enzymový přípravek, který mění lidský fibrinogen na fibrin. Získává se z tekuté lidské plazmy srážením vhodnými solemi a organickými rozpouštědly za kontroly pH, koncentrace iontů a teploty.

Žlutobílý prášek, snadno rozpustný v roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) za tvorby zakaleného světla žlutého roztoku. Uchovává se v zatavených sterilních obalech v atmosféře dusíku, chráněn před světlem a při teplotě pod 25 °C.***Trombin lidský RS***

*Trombin lidský R* se rozpustí podle návodu výrobce a zředí se *tlumivým roztokem 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 RSI**

60,6 mg *trometamolu R* a 0,234 g *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. Uchovává se při teplotě 2 °C až 8 °C. Je použitelný 3 dny.

**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  $-30^\circ$ ; měří se roztok 10 g/l.

**Tyramin R** $C_8H_{11}NO$  $M_r$  137,2

CAS 51-67-2

4-(2-Aminoethyl)fenol

Krystaly, mírně rozpustné ve vodě, dobře rozpustné ve vroucím ethanolu.

TT: 164 °C až 165 °C.

**Tyrosin R** $C_9H_{11}NO_3$  $M_r$  181,2

CAS 60-18-4

Kyselina 2-amino-3-(4-hydroxyfenyl)propionová

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé nebo bílé krystaly. Je těžce rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu, v ethanolu a v etheru, dobře rozpustný ve zředěné kyselině chlorovodíkové a v roztocích alkalických hydroxidů.

*Chromatografie.* Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Levodopum*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

**Uhličitan amonný R**

CAS 506-87-6

Je to směs proměnného množství hydrogenuhličitanu 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 *oranže methylové RS* jako indikátoru a titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS*.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* odpovídá 17,03 mg  $NH_3$ .

Uchovává se při teplotě nižší než 20 °C.

**Uhličitan amonný RS**

Roztok 158 g/l.

**Uhličitan barnatý R**

BaCO<sub>3</sub>  $M_r$  197,3 CAS 513-77-9

Bílý prášek nebo bílá drobná hmota. Je prakticky nerozpustný ve vodě.

**Uhličitan draselný R**

K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  $M_r$  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<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  $M_r$  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<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

**Uhličitan sodný bezvodý R**

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>  $M_r$  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 RS1**

Roztok uhličitanu sodného bezvodého R (20 g/l) v hydroxidu sodném 0,1 mol/l RS.

**Uhličitan sodný RS2**

Roztok uhličitanu sodného bezvodého R (40 g/l) v hydroxidu sodném 0,2 mol/l RS.

**Uhličitan sodný monohydrát R**

Viz článek *Natrii carbonas monohydricus*.

**Uhličitan strontnatý R**

SrCO<sub>3</sub>  $M_r$  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 vložení vaty bez zatížení mezi více vrstev filtračního papíru a nechá se na vzduchu vysušit.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

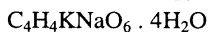
**Vínan draselno-antimonitý R**

C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>KO<sub>7</sub>Sb · 0,5H<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 333,9

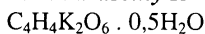
Aquatartroantimonitan draselný hemihydrát

Bílý zrnitý prášek nebo bezbarvé průsvitné krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě a v glycerolu, snadno rozpustný ve vroucí vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Vodný roztok reaguje slabě kysel.

**Vínan draselno-sodný R** $M_r$  282,2

CAS 6381-59-5

Prizmatické bezbarvé krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

**Vínan draselný R** $M_r$  235,3

CAS 921-53-9

Dikalium-(2*R*,3*R*)-2,3-butandioat hemihydrát

Bílý 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**

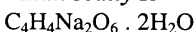
Připraví se roztok obsahující v 1 litru 10 g síranu měďnatého R a 20 g vínanu sodného R. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 50 ml uhličitanu sodného RS2. Roztok se připravuje v čas potřeby.

**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** $M_r$  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** $M_r$  86,1

CAS 108-05-4

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,930.

TV: asi 72 °C.

**Vinylchlorid R** $M_r$  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** $C_7H_7N$  $M_r$  105,1

CAS 100-69-6

Žlutá kapalina mísitelná s vodou.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,97. $n_D^{20}$ : asi 1,549.**1-Vinyl-2-pyrrolidon R** $C_6H_9NO$  $M_r$  111,1

CAS 88-12-0

Obsahuje nejméně 99,0 % sloučeniny  $C_6H_9NO$ .

Čirá bezbarvá kapalina.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 2,5 g. Jako rozpouštědlo se použije směs 50 ml methanolu bezvodého R a 10 ml butyrolaktonu R.

Stanovení obsahu. Proveďte 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  $\mu$ m,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu,
- plamenionizačního 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  $\mu$ l zkoušené látky a průtoková rychlost nosného plynu se upraví tak, aby retenční čas píku odpovídajícího 1-vinyl-2-pyrrolidonu byl asi 17 min. Obsah  $C_6H_9NO$  se stanoví metodou vnitřní normalizace.

**Violet' krystalová R** $C_{25}H_{30}ClN_3$  $M_r$  408,0

CAS 548-62-9

Colour Index 42555, Schultz 78

Hexamethyl-*p*-rosaniliniumchlorid

Tmavozelený prášek nebo krystaly. Je dobře rozpustná ve vodě a v lihu 96%.

**Violet' krystalová RS**

0,5 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.

**Vitexin R** $C_{21}H_{20}O_{11}$  $M_r$  448,4

CAS 3681-93-4

Apigenin-8-C-glukosid

Žlutý prášek.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

**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 M $\Omega$ .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 uchování chráněná před vzduchem.

**Voda prostá částic R**

Voda R se filtruje přes membránu s velikostí pórů 0,22  $\mu\text{m}$ .

**Voda R**

Viz článek *Aqua purificata*.

**Vodík pro chromatografii R**

$\text{H}_2$   $M_r$  2,016 CAS 1333-74-0  
Obsahuje nejméně 99,95 % (V/V)  $\text{H}_2$ .

**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**

$\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $M_r$  329,9 CAS 10213-10-2  
Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě na čirý roztok a prakticky nerozpustný v lihu 96%.

**Xanthydrol R**

$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$   $M_r$  198,2 CAS 90-46-0  
9-Xanthenol

Obsahuje nejméně 90,0 %  $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$ . Dodává se také ve formě methanolického roztoku obsahujícího 90 g/l až 110 g/l xanthydrolu.

Bílý až světle 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 RI**

Vyhovuje požadavkům uvedeným v odstavci *Xanthydrol R* a následujícímu dodatečnému požadavku.

Obsahuje nejméně 98,0 %  $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$ .

**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'-(3*H*-2,1-Benzoxathiol-3-yliden)bis(2,6-dibrom-3-methylfenol)-5,5'-dioxid

Hnědavě bílý prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

**Zeleň bromkresolová RS**

50 mg *zeleně bromkresolové R* se rozpustí v 0,72 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a 20 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 100 ml.

*Zkouška citlivosti*. Směs 0,2 ml roztoku *bromkresolové zeleně* a 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* je modrá. Ke změně zbarvení na žluté se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS*.

*Barevný přechod*. pH 3,6 (žlutá) až 5,2 (modrá).

**Zeleň bromkresolová - červeně methylová RS**

0,15 g *zeleně bromkresolové R* a 0,1 g *červeně methylové R* se rozpustí ve 180 ml *ethanolu R* a zředí se *vodou R* na 200 ml.

**Zeleň malachitová R**C<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 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 opláchne a ihned vysuší.

*Arsen.* K 5 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<sub>r</sub> 65,4).

Šedý velmi jemný prášek, dobře rozpustný v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS*.

**Zinek R**

Zn

A<sub>r</sub> 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 g *kyseliny ftalové R* a 0,3 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.* 0,7 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 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 aminomethylalizarindioctového 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 vlnanu draselno-sodného R se rozpustí v 500 ml vody R. Přidá se 300 ml roztoku hydroxidu sodného R (100 g/l) prostého uhličitánů a zředí se jím na 1000 ml a promíchá se.

#### **Zkoumadlo cefalinové R**

K 0,5 g až 1 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 nejvýše 3 měsíce.

#### **Zkoumadlo difenylkarbazon-rtuťnaté R**

Roztok I. 0,1 g difenylkarbazonu R se rozpustí v ethanolu R a zředí se jím na 50 ml.

Roztok II. 1 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**

0,2 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 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 wolframianu 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 mg síranu železitého R se rozpustí v 8 ml vody R a opatrně se přidá 50 ml kyseliny sírové R. Přidá se 6 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 hexachloroplatičité 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 roztoku 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 RI**

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 150 ml kádince se smíchají 4 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**

0,2 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 g *ninhydrinu R* se rozpustí ve 100 ml *methoxyethanolu R*. Jemně se protřepe s 1 g *katexu R* (300 µm až 840 µm) a přefiltruje se (roztok a). 0,16 g *chloridu cínatého R* se rozpustí ve 100 ml *tlumivého roztoku o pH 5,5* (roztok b). V čas potřeby se smíchají stejné objemy obou roztoků.

**Zkoumadlo propionanhydridové R**

1 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 směsi 5 ml *vody R*, 15 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a 20 ml *glycerolu 85% R*. Směs se zahřívá 20 s ve vodní lázni.

Připravuje se v čas potřeby.

**Zkoumadlo tromboplastinové R**

1,5 g práškového *hovězího mozku sušeného R* se třepe 10 min až 15 min se 60 ml *vody R* při 50 °C. Odstředuje 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 ml roztoku *vanilinu R* (10 g/l) v *lihu 96% R* se přidají opatrně po kapkách 2 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 *modři oracetové B R* se rozpustí ve 300 ml *dichlormethanu R*.

**Žlut' metanilová R** $C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$  $M_r$  375,4

CAS 587-98-4

Colour Index 13065, Schultz 169

Sodná sůl kyseliny 4'-anilinoazobenzen-3-sulfonové

Nahnědle žlutý prášek, dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v etheru.

**Žlut' metanilová RS**Roztok (1 g/l) v *methanolu R*.

*Zkouška citlivosti.* K 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* se přidá 0,1 ml roztoku žluti metanilové. Po přidání 0,05 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* se růžovočervené zbarvení změní na fialové.

*Barevný přechod.* pH 1,2 (červená) až pH 2,3 (oranžovožlutá).**Žlut' naftolová S R** $C_{10}H_4N_2Na_2O_8S$  $M_r$  358,2

CAS 846-70-8

Colour Index 10316

Disodná sůl kyseliny 8-hydroxy-5,7-dinitro-2-naftalensulfonové

Žlutý nebo oranžově žlutý prášek, snadno rozpustný ve vodě.

*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

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 0,5 g/l.

*Zkouška citlivosti.* K 0,1 ml roztoku žluti titanové se přidá 10 ml *vody R*, 0,2 ml základního roztoku *hořčíku (10  $\mu$ g Mg/ml)* a 1,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS*. V porovnání se současně stejným způsobem připraveným kontrolním roztokem bez přidání roztoku *hořčíku* 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 µg NH<sub>4</sub>/ml)**

2,0 ml roztoku amonia (2,5 µg NH<sub>4</sub>/ml) se zředí vodou R na 5,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok antimonu (1 µg Sb/ml)**

Množství vínanu draselno-antimonitého R odpovídající 0,274 g C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>KO<sub>7</sub>Sb · 0,5H<sub>2</sub>O 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 µg As/ml)**

Množství oxidu arsenitého R odpovídající 0,330 g As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> se rozpustí v 5 ml hydroxidu sodného zředěného RS a zředí se vodou R na 250,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 100,0 ml.

**Roztok arsenu (1 µg As/ml)**

1,0 ml roztoku arsenu (10 µg As/ml) se v čas potřeby zředí vodou R na 10,0 ml.

**Roztok arsenu (0,1 µg As/ml)**

1,0 ml roztoku arsenu (1 µg As/ml) se v čas potřeby zředí vodou R na 10,0 ml.

**Roztok barya (50 µg Ba/ml)**

Množství chloridu barnatého R odpovídající 0,178 g BaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>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 síranu draselného R odpovídající 0,446 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml zředí vodou R na 20,0 ml.

**Roztok draslíku (20 µg K/ml)**

1,0 ml roztoku draslíku (100 µg K/ml) se zředí vodou R na 5,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok dusičnanů (100 µg NO<sub>3</sub>/ml)**

Množství dusičnanu draselného R odpovídající 0,815 g KNO<sub>3</sub> 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 NO<sub>3</sub>/ml)**

1,0 ml roztoku dusičnanů (100 µg NO<sub>3</sub>/ml) se zředí vodou R na 10,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok dusičnanů (2 µg NO<sub>3</sub>/ml)**

1,0 ml roztoku dusičnanů (10 µg NO<sub>3</sub>/ml) se zředí vodou R na 5,0 ml. Připravuje 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. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok formaldehydu (5 µg CH<sub>2</sub>O/ml)**

Množství formaldehydu *R* odpovídající 1,0 g CH<sub>2</sub>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 (200 µg PO<sub>4</sub>/ml)**

Množství dihydrogenfosforečnanu draselného *R* odpovídající 0,286 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 1000,0 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 ethanolom *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 hexakynoželezitanu (100 µg Fe(CN)<sub>6</sub>/ml)**

Množství hexakynoželezitanu 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  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 10,0 ml.

**Roztok hořčíku (10 µg Mg/ml)**

1,0 ml roztoku *hořčíku (100 µg Mg/ml)* se zředí *vodou R* na 10,0 ml. 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 (50 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 10,0 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  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  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  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  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  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

**Roztok mědi (10 µg Cu/ml)**

1,0 ml roztoku *mědi (1 mg Cu/ml)* se zředí *vodou R* na 100,0 ml. 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<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 100,0 ml.

**Roztok niklu (0,2 µg Ni/ml)**

1,0 ml roztoku niklu (10 µg Ni/ml) se zředí vodou R na 50,0 ml. 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<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 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 H<sub>2</sub>SeO<sub>3</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 40,0 ml.

**Roztok síranů (100 µg SO<sub>4</sub>/ml)**

Množství *síranu draselného R* odpovídající 0,181 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou destilovanou R* na 10,0 ml.

**Roztok síranů (10 µg SO<sub>4</sub>/ml)**

Množství *síranu draselného R* odpovídající 0,181 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou destilovanou R* na 100,0 ml.

**Roztok síranů (10 µg SO<sub>4</sub>/ml) (I)**

Množství *síranu draselného R* odpovídající 0,181 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 SO<sub>2</sub>/ml)**

Množství *disiřičitanu sodného R* odpovídající 0,152 g Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub> se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml. Ke 3,0 ml tohoto roztoku se přidají 4,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

**Roztok sodíku (200 µg Na/ml)**

Množství *chloridu sodného R* odpovídající 0,509 g NaCl se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 10,0 ml.

**Roztok sodíku (50 µg Na/ml)**

2,5 ml roztoku *sodíku (200 µg Na/ml)* se zředí *vodou R* na 10,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok stroncia (10 mg Sr/ml)**

Množství *uhličitanu strontnatého R* odpovídající 1,6849 g SrCO<sub>3</sub> 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 AgNO<sub>3</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 thallia (10 µg Tl/ml)**

Množství *síranu thallného R* odpovídající 0,1235 g  $Tl_2SO_4$  se rozpustí v roztoku *chloridu sodného R* (9 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  $NH_4VO_3$  se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

**Roztok vápníku (400 µg Ca/ml)**

Množství *uhličitanu vápenatého R* odpovídající 1,000 g  $CaCO_3$  se rozpustí ve 23 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou destilovanou R* na 10,0 ml.

**Roztok vápníku (100 µg Ca/ml)**

Množství *uhličitanu vápenatého R* odpovídající 0,624 g  $CaCO_3$  se rozpustí ve 3 ml *kyseliny octové RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 250,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou destilovanou R* na 10,0 ml.

**Roztok vápníku (100 µg Ca/ml) (I)**

Množství *chloridu vápenatého bezvodého R* odpovídající 2,769 g  $CaCl_2$  se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 10,0 ml.

**Roztok vápníku (100 µg Ca/ml) v lihu**

Množství *uhličitanu vápenatého R* odpovídající 2,50 g  $CaCO_3$  se rozpustí ve 12 ml *kyseliny octové RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *lihem 96% R* na 10,0 ml.

**Roztok vápníku (10 µg Ca/ml)**

Množství *uhličitanu vápenatého R* odpovídající 0,624 g  $CaCO_3$  se rozpustí ve 3 ml *kyseliny octové RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 250,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou destilovanou R* na 100,0 ml.

**Roztok zinku (5 mg Zn/ml)**

Množství *oxidu zinečnatého R* odpovídající 3,15 g  $ZnO$  se rozpustí v 15 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zředí se *vodou R* na 500,0 ml.

**Roztok zinku (100 µg Zn/ml)**

K množství *síranu zinečnatého R* odpovídajícímu 0,440 g  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  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)**

1,0 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)**

1,0 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  $ZrO(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$  se rozpustí ve směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *vody R* (2 + 8) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

**Roztok železa (1 mg Fe/ml)**

0,100 g Fe se rozpustí v nejmenším možném množství směsi stejných 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 2,2**

6,7 ml *kyseliny fosforečné R* se smíchá s 50,0 ml roztoku *hydroxidů sodného zředěného RS* (4 %) a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

**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 *hydroxidů 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 % R* na hodnotu 3,7 a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

**Tlumivý roztok se síranem měďnatým o pH 4,0**

0,25 g *síranu měďnatého R* a 4,5 g *octanu amonného R* se rozpustí v *kyselině octové zředěné RS* a zředí se jí na 100,0 ml.

**Tlumivý roztok octanový o pH 4,4**

136 g *octanu sodného R* a 77 g *octanu amonného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. Tento roztok se smíchá s 250,0 ml *kyseliny octové ledové R*.

**Tlumivý roztok hydrogenftalanový o pH 4,4**

2,042 g *hydrogenftalanu draselného R* se rozpustí v 50 ml *vody R*, přidá se 7,5 ml *hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 200,0 ml.

**Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 4,5 (0,05 mol/l)**

6,80 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 1000,0 ml *vody R*. Hodnota pH (2.2.3) roztoku je 4,5.

**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* (0,1 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 *hydrogenfitalanu 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% R* nebo *kyselinou octovou RS* a potom se zředí *vodou R* na 500,0 ml.

**Tlumivý roztok diethylamoniumfosforečnanový o pH 6,0**

68 ml *kyseliny fosforečné R* se zředí *vodou R* na 500 ml. K 25 ml tohoto roztoku se přidá 450 ml *vody R* a 6 ml *diethylaminu R*, 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 *síranu hořečnatého R* se rozpustí v 752 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) roztoku a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

**Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,6**

K 250,0 ml *dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS* se přidá 89,0 ml *hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

**Tlumivý roztok fosforečnanový s chloridem sodným o pH 6,8**

1,0 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R*, 2,0 g *hydrogenfosforečnanu draselného R* a 8,5 g *chloridu sodného R* se rozpustí v 900 ml *vody R*. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

**Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,8**

77,3 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R* (71,5 g/l) se smíchá s 22,7 ml roztoku *kyseliny citronové R* (21 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 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 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 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 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 ±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 a 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 doplní 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 ±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 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*, 0,1 g *chloridu hořečnatého R*, 3,18 g *hydrogenfosforečnanu sodného R* a 0,2 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

**Tlumivý roztok imidazolový o pH 7,3**

3,4 g *imidazolu R* a 5,8 g *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 18,6 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3).

**Tlumivý roztok barbitalový o pH 7,4**

50 ml roztoku obsahujícího *octan sodný R* (19,44 g/l) a *barbital sodnou síl 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 (1)*.

**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)**

0,6 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 doplní se *vodou R* na 100 ml.

**Tlumivý roztok trometamolový o pH 7,5**

7,27 g *trometamolu R* a 5,27 g *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R*, je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

**Tlumivý roztok trometamolový o pH 7,5 (1)**

Viz odstavec *Tlumivý roztok trometamolový o pH 7,5 (0,05 mol/l)*.

**Tlumivý roztok trometamolový o pH 7,5 (0,05 mol/l)**

6,057 g *trometamolu R* se rozpustí ve *vodě R*, 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 (I)**

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 (I)**

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 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 objemy roztoků (a), (b) a (c) a pH se upraví amoniakem 26% R na hodnotu 7,5.

## 4.2 Odměrná analýza

### 4.2.1 Základní látky pro odměrné roztoky

Základní látky pro odměrné roztoky jsou označeny písmeny VR a připravují se následujícími postupy.

**Bromičnan draselný VR**

KBrO<sub>3</sub>

$M_r$  167,0

CAS 7758-01-2

Připravuje se překrystalizováním 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 překrystalizuje z vroucí vody R, krystaly se oddělí při teplotě nad 35 °C a suší se při 110 °C do konstantní hmotnosti.

**Chlorid sodný VR**

NaCl

$M_r$  58,44

CAS 7647-14-5

Na jeden objemový díl nasyceného roztoku chloridu sodného R se přidají dva objemové díly kyseliny chlorovodíkové R. Vyloučené krystaly se promyjí kyselinou chlorovodíkovou RS, která se odstraní zahříváním na vodní lázni. Krystaly se suší při 300 °C do konstantní hmotnosti.

**Kyselina benzoová VR**

C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>

$M_r$  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 překrytalizováním *kyseliny sulfanilové R* z vroucí *vody R*. 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

Nasyčený 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

 $A_r$  65,4

CAS 7440-66-6

Obsah zinku je nejméně 99,9 %.

**4.2.2 Odměrné roztoky**

Odměrné roztoky se připravují obvyklými chemickými analytickými postupy. Ověří se přesnost použité aparatury, zda je vhodná pro zamýšlené použití.

Koncentrace odměrných roztoků se uvádí v molaritě. Molarita vyjadřuje počet molů látky rozpuštěné v 1 litru roztoku. Roztok, který obsahuje  $x$  molů látky v litru, se označuje  $x$  mol/l.

Odměrné roztoky se neliší od předepsané koncentrace o více než 10 %. Molarita odměrných roztoků se stanoví s přesností 0,2 %.

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 jí na 400 ml. Potom se přidává *kyselina chlorovodíková zředěná RS*, dokud není roztok neutrální na *papír lakmusový R*. V roztoku se rozpustí 2 g *hydrogenuhličitanu sodného R* a zředí se *vodou R* na 500,0 ml.

**Benzethoniumchlorid 0,004 mol/l VS**

1,792 g *benzethoniumchloridu 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 benzethoniumchloridu, 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 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 oranže xylenolové s dusičnanem draselným R a takové množství methenaminu R, až vznikne fialově růžové zbarvení. Dále se přidají 2 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 thymolftaleinu RS jako indikátoru. Titr se stanoví v čas potřeby.

1 ml hydroxidu sodného v ethanolu 0,1 mol/l VS odpovídá 12,21 mg 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 ftaleinpurpuru R a titruje se edetanem disodným 0,1 mol/l VS. Když se roztok začne odbarvovat, přidá se 50 ml lihu 96% R a titruje se až do vymizení modrofialového zbarvení.

**Chlorid hořečnatý 0,1 mol/l VS**

20,33 g chloridu hořečnatého R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

*Stanovení titru.* Obsah hořčíku se stanoví chelatometricky (2.5.11).

**Chlorid zinečnatý 0,05 mol/l VS**

6,82 g chloridu zinečnatého R (váží se velmi opatrně) se rozpustí ve vodě R. Je-li potřeba, přidává se po kapkách kyselina chlorovodíková zředěná RS 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 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  $As_2O_3$ .

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 stát 2 min. Titruje se arsenitanem sodným 0,025 mol/l VS až žluté zbarvení roztoku téměř zmizí. Přidají se 2 ml škrobu RS a pomalu se titruje až do úplného zmizení zbarvení.

**Jodosířičité 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  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  a rychle za stálého míchání se přidá 190 g kapalného oxidu siřičitého R, přičemž teplota nesmí překročit  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Roztok se ochladí.

**Stanovení titru.** Asi 20 ml methanolu bezvodého R se titruje jodosířičitým 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 jodosířičitého činidla.

1 ml jodosířičitého 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.

**Karbohopendeciniumbromid 0,01 mol/l VS**

Množství karbohopendeciniumbromidu R odpovídající 4,2250 g  $C_{21}H_{44}BrNO_2$ , vysušeného při  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$  do konstantní hmotnosti, se rozpustí v odměrné baňce ve vodě R a doplní se jí na 1000,0 ml. Roztok je stálý.

**Kyselina dusičná 1 mol/l VS**

96,6 g kyseliny dusičné R se zředí vodou R na 1000,0 ml.

**Stanovení titru.** 1,000 g uhličitanu sodného VR se rozpustí v 50 ml vody R, přidá se 0,1 ml oranže methylové RS a titruje se roztokem kyseliny dusičné do první změny zbarvení na červenožluté. Potom se vaří 2 min, přičemž se zbarvení roztoku změní na žluté. Po ochlazení se dotitruje do červenožlutého zbarvení.

1 ml kyseliny dusičné 1 mol/l VS odpovídá 53,00 mg  $Na_2CO_3$ .

**Kyselina chloristá 0,1 mol/l VS**

K 900 ml kyseliny octové ledové R se v odměrné baňce za míchání přidá 8,5 ml kyseliny chloristé R, potom se přidá 30 ml acetanhydridu R a zředí se kyselinou octovou ledovou R na 1000,0 ml. Směs se promíchá a nechá se stát 24 h. Stanoví se obsah vody semimikrostanovením (2.5.12) bez přidání methanolu a je-li třeba, upraví se obsah vody na 0,1 % až 0,2 % přidáním buď acetanhydridu R, nebo vody R. Opět se nechá stát 24 h.

**Stanovení titru.** 0,350 g *hydrogenftalanu draselného VR* se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R*. Po ochlazení, při němž je třeba roztok chránit před vlivem vzduchu, se titruje roztokem *kyseliny chloristé* za použití 0,05 ml *violeti krystalové RS*. V průběhu stanovení titru je potřebné sledovat teplotu roztoku *kyseliny chloristé*. Je-li teplota při stanovení obsahu odlišná od teploty při stanovení titru *kyseliny chloristé*, provede se korekce objemu *kyseliny chloristé* použité na stanovení obsahu následovně:

$$V_c = V [1 + (t_1 - t_2) 0,0011],$$

v němž značí:

$t_1$  - teplota při stanovení titru,

$t_2$  - teplota při stanovení obsahu,

$V_c$  - korigovaný objem,

$V$  - nalezený objem při stanovení obsahu.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,42 mg  $C_8H_5KO_4$ .

#### **Kyselina chloristá 0,05 mol/l VS**

50,0 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* se zředí *kyselinou octovou bezvodou R* na 100,0 ml.

#### **Kyselina chlorovodíková 1 mol/l VS**

103,0 g *kyseliny chlorovodíkové R* se zředí *vodou R* na 1000,0 ml.

**Stanovení titru.** 1,000 g *uhličitanu sodného VR* se rozpustí v 50 ml *vody R*, přidá se 0,1 ml *oranže methylové RS* a titruje se roztokem *kyseliny chlorovodíkové* do první změny zbarvení na žlutočervené. Potom se vaří 2 min, přičemž se zbarvení roztoku změní na žluté. Po ochlazení se dotitruje do žlutočerveného zbarvení.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* odpovídá 53,00 mg  $Na_2CO_3$ .

#### **Kyselina chlorovodíková 0,5 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 *uhličitanu sodného VR*, který se rozpustí ve 20 ml *vody R*.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* odpovídá 5,30 mg  $Na_2CO_3$ .

#### **Kyselina octová 0,1 mol/l VS**

6,0 g *kyseliny octové ledové R* se zředí *vodou R* na 1000,0 ml.

**Stanovení titru.** K 25,0 ml *kyseliny octové* se přidá 0,5 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS*.

**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 uhlíčitanu 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<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

**Kyselina sírová 0,05 mol/l VS**

100,0 ml kyseliny sírové 0,5 mol/l VS se zředí vodou R na 1000,0 ml.

**Stanovení titru.** Titr kyseliny sírové se stanoví způsobem uvedeným v odstavci Kyselina sírová 0,5 mol/l VS s navážkou 0,100 g uhlíčitanu 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 R a po malých dávkách se přidává za chlazení asi 2,5 g čerstvě nařezaného sodíku R. Když se kov rozpustí, roztok se zředí toluenem R na 1000,0 ml.

**Stanovení titru.** K 10 ml dimethylformamidu R se přidá 0,05 ml roztoku modři thymolové R (3 g/l) v methanolu R a titruje se roztokem methoxidu sodného do jasně modrého zbarvení. Ihned se přidá 0,200 g kyseliny benzoové VR, míchá se do rozpuštění a znovu se titruje roztokem methoxidu sodného do jasně modrého zbarvení. Roztok je v průběhu titrace nutné chránit před vzdušným oxidem uhličitým. Titr roztoku methoxidu sodného se vypočítá ze spotřeby získané při druhé titraci. Stanovení titru se provede v čas potřeby.

1 ml methoxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 12,21 mg C<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 R jako indikátoru.

**Síran měďnatý 0,02 mol/l VS**

5,0 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 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<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>.

**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<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

**Tetrasulfatoceričitan amonný 0,01 mol/l VS**

Ke 100,0 ml roztoku tetrasulfatoceričitanu amonného 0,1 mol/l VS se za chlazení přidá 30 ml kyseliny sírové R a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

**Thiokyanatan amonný 0,1 mol/l VS**

7,612 g thiokyanatanu amonného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 20,0 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS se přidá 25 ml vody R a 2 ml kyseliny dusičné zředěné RS a titruje se roztokem thiokyanatanu amonného za použití 2 ml síranu amonno-železitého RS2 do červenožlutého zbarvení.

**Thiosíran sodný 0,1 mol/l VS**

25 g thiosíranu sodného R a 0,2 g uhličitanu sodného R se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 10,0 ml bromičnanu draselného 0,033 mol/l VS se přidá 40 ml vody R, 10 ml jodidu draselného RS a 5 ml kyseliny chlorovodíkové RS a titruje se roztokem thiosíranu sodného za použití 1 ml škrobu RS jako indikátoru, který se přidá před koncem titrace.

**Seznam referenčních látek použitých v národních člancích****N**

5-Aminoimidazol-4-karboxamid hydrochlorid CRL (AICA)

2-Azahypoxanthin CRL (AHX)

Butamiraciumdihydrogencitrat CRL

Celiprololiumchlorid CRL

Carbethopendecinii bromidum 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

Tinctura amara CRL

Trimekainiumchlorid CRL

Troxerutin CRL

Xanthinolumnikotinat CRL

13. V příloze části 5 Všeobecné dodatky, kapitola 5.2.3 zní:

”

### 5.2.3 Buněčné substráty pro výrobu humánních vakcín



Tato obecná stať se zabývá diploidními buněčnými liniemi a kontinuálními buněčnými liniemi užívanými pro výrobu humánních vakcín; specifické postupy, vztahující se k vakcínám vyráběným rekombinantní DNK technologií, jsou popsány v článku *Producta ab ADN recombinante*. Zkoušení se provádí v různých stadiích (základní buňky, banka základních buněk, banka pracovních buněk, buňky používané pro výrobu ve stadiu maximálního zdvojení populace nebo za ním), jak je uvedeno v tabulce 5.2.3-1. Obecná opatření pro použití buněčných linií a zkušební metody jsou uvedeny níže.

Jestliže se pro výrobu vakcíny použijí primární buňky nebo buňky po několika pasážích bez ustavení buněčné banky, jsou požadavky uvedeny v jednotlivých člancích týkajících se vakcín.

**Diploidní buněčné linie.** Diploidní buněčné linie mají vysokou, ale konečnou kapacitu pro pomnožování *in vitro*.

**Kontinuální buněčné linie.** Kontinuální buněčné linie mají schopnost se nekonečně pomnožovat *in vitro*; buňky často mají odlišnosti v karyotypu ve srovnání s původními buňkami; mohou být získány ze zdravých nebo nádorových tkání.

Pro vakcíny k injekčnímu podání vyráběné v kontinuálních buněčných liniích je purifikační proces validován k průkazu odstranění DNK z buněčného substrátu na úroveň nejvýše 10 ng v jedné lidské dávce, pokud není předepsáno jinak.

**Systém buněčných bank.** Výroba vakcín v diploidních nebo kontinuálních liniích je založena na systému buněčných bank. Věk buněk *in vitro* se počítá od banky základních buněk. Každá banka pracovních buněk je připravena z jedné nebo více nádob banky základních buněk. Použití, totožnost a kontrola obsahu nádob se pečlivě dokumentují.

**Média a látky živočišného a lidského původu.** Složení médií použitých pro izolaci a všechny následné kultury se detailně zaznamenávají a jestliže se použijí látky živočišného původu, jsou prosty cizorodých agens.

Je-li použit lidský albumin, vyhovuje článku *Albumini humani solutio*.

Bovinní sérum, použité pro přípravu a udržování buněčných kultur, se zkouší a prokáže se, že je sterilní a že v něm nejsou přítomny bovinní viry, jmenovitě virus bovinní diarhoey, ani mykoplazmata.

Trypsin použitý pro přípravu buněčných kultur se zkouší vhodnými metodami a prokáže se, že je sterilní a že neobsahuje mykoplazmata ani viry, jmenovitě pestiviry a parvoviry.

**Buněčné inokulum.** Údaje použité k posouzení vhodnosti buněčného inokula obsahují, kde je to dostupné, informace o jeho původu a vývoji a charakteristiku.

**Původ buněčného inokula.** Pro lidské buněčné linie se zaznamenávají následující informace o dárci: etnický a zeměpisný původ, věk, pohlaví, celkový fyziologický stav, použitá tkáň nebo použitý orgán a výsledky zkoušek na patogeny.

Pro živočišné buněčné linie se zaznamenávají následující informace o původu buněk: druh, kmen, podmínky chovu, zeměpisný původ, věk, pohlaví, celkový fyziologický stav, použitá tkáň nebo použitý orgán, výsledky zkoušek na patogeny.

Buňky nervového původu, jako např. linie buněk neuroblastomu a buněk P12, mohou obsahovat látky, ve kterých jsou koncentrována agens spongioformní encefalopatie. Takové buňky se nepoužívají pro výrobu vakcín.

**Vývoj buněčného inokula.** Zaznamenávají se následující informace: metoda použitá k izolaci buněčného inokula, kulturační metody a ostatní postupy vedoucí k ustavení banky základních buněk, zvláště pak možná expozice buněk cizorodým agens.

Pokud není k dispozici úplná informace o složkách médií použitých v minulosti ke kultivaci buněk, např. o původu látek živočišného původu, kde je předepsáno a schváleno, mohou se již zavedená buněčná inokula používající tato média použít pro výrobu vakcíny.

**Charakteristika buněčného inokula.** Jsou zkoumány následující vlastnosti:

- (1) totožnost buněk (např. izoenzymy, sérologie, otiskové mapy nukleových kyselin);
- (2) růstové charakteristiky buněk a jejich morfologické vlastnosti (světelná a elektronová mikroskopie);

- (3) karyotyp diploidních buněčných linií;  
(4) pro linie diploidních buněk životnost linie *in vitro* v termínech zdvojení populace.

**Stabilita buněčného substrátu.** Prokáže se vhodná životaschopnost buněčné linie v zamýšlených podmínkách uchování. Pro daný přípravek, jenž má být připraven na buněčné linii, je nezbytné prokázat, že může být dosažena homogenní výroba s buňkami ve výchozí i konečné pasáži v zamýšleném rozsahu použití.

**Infekční cizorodá agens.** Buněčné linie pro výrobu vakcíny jsou prosty infekčních cizorodých agens. Zkoušky na nepřítomnost cizorodých agens se provedou podle tabulky 5.2.3-1.

V závislosti na původu a vývoji buněčné linie je nezbytné provést zkoušky na vybrané specificky potenciální kontaminanty, zvláště na ty, o nichž je známo, že mohou latentně infikovat druh dárce, např. virus SV 40 druh *Macaca*. Pro buněčné linie původem z hlodavců se zkoušky tvorby protilátek provádějí na myších, potkanech a křečcích, aby se detegovaly druhově specifické viry.

Buněčné linie se zkoušejí na přítomnost retrovirů, jak je popsáno níže. Buněčné linie, které vykazují přítomnost retrovirů schopných replikace, nejsou použitelné pro výrobu vakcín.

**Tumorigenita.** Pro přípravu živých vakcín nesmí buněčná linie být tumorigenní v žádné hladině zdvojení použité pro výrobu vakcíny. Při použití tumorigenní linie pro výrobu jiných typů vakcín je purifikační proces validován k průkazu redukce reziduální DNK z buněčného substrátu na méně než 10 ng na jednu lidskou dávku, a na snížení bílkovin buněčného substrátu na přijatelnou úroveň.

Buněčné linie se známým tumorigenním potenciálem nemusí být dále zkoušeny. Buněčné linie, u nichž není tumorigenní potenciál znám, jsou považovány za tumorigenní nebo se přezkoušejí na tumorigenitu *in vitro* zkouškou popsanou dále; je-li výsledek zkoušky *in vitro* negativní nebo nejasně pozitivní, provede se zkouška *in vivo* uvedená dále. Tyto zkoušky se provádějí s buňkami v úrovni maximálního zdvojení populace, která bude použita při výrobě vakcíny.

Buněčné linie MRC-5, WI-38 a FRhL-2 jsou uznány jako netumorigenní a následné zkoušky není třeba provádět.

**Chromozomální charakteristika.** Linie diploidních buněk musí být prokazatelně diploidní. Rozsáhlejší charakteristika diploidních buněčných linií analýzou karyotypu se vyžaduje, není-li validováno odstranění intaktních buněk při výrobě po sklizni. Zkouší se vzorky ze čtyř úrovní pasáží rovnoměrně odebíraných během životního cyklu buněčné linie. Zkouší se minimálně 200 buněk v metafázi na přesný počet chromozomů a frekvenci hyperploidie, hypoploidie, polyploidie, zlomů a strukturálních abnormalit.

Buněčné linie MRC-5, WI-38 a FRhL-2 se považují za diploidní a dobře charakterizované; nejsou-li geneticky modifikované, další charakteristika není nutná.

### Zkušební metody pro buněčné kultury

**Zkouška totožnosti.** Použije se analýza otiskové mapy nukleových kyselin a odpovídající výběr z následujících metod ke stanovení totožnosti buněk:

1. biochemická charakteristika (analýza izoenzymů),
2. imunologická charakteristika (antigeny tkáňové slučitelnosti),
3. cyto genetické markery.

**Kontaminující buňky.** Analýza otisku mapy nukleových kyselin provedená ve zkoušce totožnosti slouží také k průkazu nepřítomnosti kontaminujících buněk.

**Bakteriální a houbová kontaminace.** Banka základních buněk a každá banka pracovních buněk vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1) provedené s použitím 10 ml supernatantní tekutiny z buněčných kultur na každou živnou půdu. Proveďte se zkouška 1 % obalů, nejméně dva obaly.

**Mykoplazmata.** (2.6.7). Banka základních buněk a každá banka pracovních buněk vyhovuje zkoušce na mykoplazmata kultivační metodou a metodou indikátorových buněčných kultur. Ve zkoušce se použije jedna nebo více nádob.

**Zkouška na cizorodá agens v buněčných kulturách.** Buňky vyhovují zkoušce na hemadsorbující viry a zkouškám buněčných kultur na cizorodá agens, popsaným ve stati 2.6.16 v odstavci Kultura produkčních buněk: kontrolní buňky. Jsou-li buňky opičího původu, inokulují se do kultur buněk králičích ledvin k průkazu herpesviru B (cerkopitecidií herpesvirus 1).

## Souběžná kultivace

Souběžně se odděleně kultivují celistvé a porušené buňky v různých buněčných systémech, včetně lidských a opičích buněk. Provedou se zkoušky k detekci možných morfologických změn. K detekci hemaglutinujících virů se provedou zkoušky na médiu z tkáňových kultur. Buňky vyhovují zkoušce, nejsou-li nalezeny žádné známky cizorodých agens.

## Retroviry

Přítomnost retrovirů se zkouší použitím:

1. zkoušky infekčnosti,
2. transmisní elektronové mikroskopie,
3. jestliže zkoušky 1. a 2. dávají negativní výsledky, provede se zkouška na reverzní transkriptasu (za přítomnosti hořčíku a manganu) v usazenině získané při vysokootáčkovém odstředování.

**Zkoušky na zvířatech.** Každé z následujících skupin zvířat se vstříkne intramuskulárně (nebo sajícím myším subkutánně)  $10^7$  živých buněk rozdělených stejnoměrně mezi zvířata v každé skupině:

1. dvěma vrhům sajících myší mladších než 24 hodin, každý nejméně o deseti zvířatech,
2. deseti dospělým myším.

Intracerebrálně se vstříkne každé z deseti dospělých myší  $10^6$  živých buněk k detekci možné přítomnosti viru lymfocytární choriomeningitidy.

Zvířata se pozorují nejméně 4 týdny. Sleduje se, zda nezeslábnu nebo zda nevykazují abnormality, které by mohly být příčinou onemocnění. Buňky v této zkoušce vyhovují, pokud nejsou nalezeny známky výskytu cizorodých agens. Zkouška je neplatná, jestliže méně než 80 % zvířat z každé skupiny zůstane zdravých a přežije do konce doby pozorování.

Pro buňky získané z různých druhů hlodavců (např. ovariální buňky čínské křečka nebo buňky ledvin mláďete křečka) se zkoušky na protilátky proti možným virovým kontaminantám dotyčného druhu provedou injekcí buněk do zvířete stejného druhu.

**Zkoušky na vejcích.** Použije se inokulum  $10^6$  buněk na vejce, buňky se vstříknou do alantoidní dutiny deseti SPF kuřecích embryí (5.2.2) starých 9 až 11 dní. Dále se injikují do žloutkového vaku deseti SPF kuřecích embryí starých 5 až 6 dní. Inkubují se nejméně 5 dní. Zkouška alantoidní tekutiny na přítomnost hemaglutininů se provede savčími a ptačími červenými krvinkami: zkouška se provádí při  $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$  a  $20^\circ\text{C}$  až  $25^\circ\text{C}$  a výsledky se odečítají po 30 a 60 minutách. Buňky vyhovují zkoušce, nejsou-li nalezeny známky přítomnosti cizorodých agens. Zkouška je neplatná, jestliže méně než 80 % embryí zůstane zdravých a přežije do konce doby pozorování.

**Zkouška tumorogenity *in vitro*.** Mohou se použít následující zkušební systémy:

1. tvorba kolonií na měkkém agarovém gelu,
2. vytváření invazivního buněčného růstu po inokulaci do orgánových kultur,
3. studie transformační aktivity s použitím např. systému 3T3 pro aktivní onkogeny.

## Zkoušky tumorogenity *in vivo*

Zkouška spočívá v tom, že se zavede porovnání buněčné linie s vhodnou pozitivní kontrolou (např. HeLa nebo Hep2 buňky).

Živočišné systémy prokazatelně vhodné pro tuto zkoušku zahrnují:

1. bezthymové myši (genotyp Nu/Nu),
2. novorozené myši, potkany nebo křečky ošetřené antithymocytárním sérem nebo globulinem,
3. bezthymové a ozářené myši (T, B<sup>+</sup>) naočkované kostní dřením zdravých myší.

Po zvolení živočišného systému se buněčná linie a referenční linie injikují odděleně dvěma skupinám zvířat po 10 jedincích. Inokulum pro každé zvíře je  $10^7$  buněk suspendovaných v objemu 0,2 ml a vstříkne se buď intramuskulárně, nebo subkutánně. Novorozeným myším se vstříkne po 0,1 ml antithymocytárního séra nebo globulinu ve dnech 0, 2, 7, 9 a 14 po narození.

Účinné sérum nebo globulin potlačí imunitní mechanismus rostoucích zvířat do té míry, že následující inokulum  $10^7$  pozitivních referenčních buněk často produkuje nádory a metastázy.

Některé nemocné myši zřetelně vykazují progresivně rostoucí tumor a utratí se před koncem zkoušky, aby se zabránilo zbytečnému utrpení.



Na konci pozorovacího období se usmrtí všechna zvířata, včetně kontrolní skupiny, a vyšetřuje se celková a mikroskopická přítomnost proliferace inokulovaných buněk v místě vpichu i na jiných místech (např. lymfatické uzliny, plíce, ledviny a játra).

Ve všech zkušebních systémech se zvířata v pravidelných intervalech pozorují a vyšetřují pohmatem na tvorbu uzlin v místech vpichu. Jakékoliv vytvořené uzliny se měří ve dvou vzájemně kolmých rovinách a měření se pravidelně zaznamenávají, aby se stanovilo, zda se jedná o progresivní růst uzliny. Zvířata s uzlinami vykazujícími regresi během pozorovacího období jsou utracena dříve, než se uzliny stanou nehmotnými, a podrobí se histologickému vyšetření. Zvířata s progresivně rostoucími uzlinami se pozorují 1 až 2 týdny. Ze zvířat bez tvorby uzlin se polovina pozoruje 3 týdny a polovina 12 týdnů před usmrcením a zpracováním na histologické vyšetření. Pítvá se každé zvíře, včetně vyšetření na celkový důkaz tvorby tumoru v místě vpichu a v jiných orgánech, jako jsou lymfatické uzliny, plíce, mozek, slezina, ledviny a játra. Všechny léze podobné tumoru a místo vpichu se vyšetří histologicky. Protože některé buněčné linie mohou tvořit metastázy bez známek místního nádorového růstu, vyšetří se jakékoliv zjištělé regionální lymfatické uzliny a plíce všech zvířat histologicky.

Zkouška není platná, jestliže méně než devět z deseti zvířat naočkovaných pozitivními referenčními buňkami vykazuje progresivně rostoucí tumor.

**Tab. 5.2.3-1** Zkoušení buněčných linií

Zkouška	Buněčné inokulum	Banka základních buněk	Banka pracovních buněk	Buňky použité pro výrobu ve stadiu maximálního zdvojení populace nebo za ním
<b>1. TOTOŽNOST A ČISTOTA</b>				
morfologie	+	+	+	+
relevantní výběr následujících zkoušek: biochemické (např. isoenzymy), imunologické: např. histokompatibilita), cytogenetické markery, otiskové mapy nukleových kyselin	+	+	+	+
karyotyp (diploidní buněčné linie)	+	+	+ <sup>(1)</sup>	+ <sup>(1)</sup>
životnost (diploidní buněčné linie)	-	+	+	-
<b>2. CIZORODÁ AGENS</b>				
bakteriální a houbová kontaminace	-	+	+	-
mykoplazmata	-	+	+	-
zkoušky v buněčných kulturách	-	-	+	-
souběžná kultivace	-	-	+ <sup>2</sup>	+ <sup>2</sup>
zkoušky na zvířatech a vejcích	-	-	+ <sup>2</sup>	+ <sup>2</sup>
specifické zkoušky na možné kontaminanty závislé na původu buněk (viz Infekční cizorodá agens)	-	-	+ <sup>2</sup>	+ <sup>2</sup>
retroviry	-	+ <sup>3</sup>	-	+ <sup>3</sup>
<b>3. TUMOROGENITA</b>				
tumorigenita	-	-	-	+ <sup>4</sup>

#### Vysvětlivky

1. Diploidní charakter se určí pro každou banku pracovních buněk, ale za použití buněk použitých pro výrobu ve stadiu maximálního zdvojení populace, nebo za ním.

2. Zkoušení se provádí pro každou banku pracovních buněk, ale použití buněk použitých pro výrobu ve stadiu maximálního zdvojení populace nebo za ním.
3. Zkoušení se provádí pro banku základních buněk, ale za použití buněk použitých pro výrobu ve stadiu maximálního zdvojení populace nebo za ním.
4. Buněčná linie MRC-5, buněčná linie WI-38 a buněčná linie FRhL-2 se nepovažují za tumorogenní a nemusí se zkoušet. Zkoušky buněčných linií, o nichž je známo, že jsou tumorogenní, nebo o nichž se to předpokládá, se neprovádějí.

“

14. V příloze části 5 Všeobecné dodatky, kapitola 5.2.8 zní:

”

### 5.2.8 Minimalizace rizika přenosu původců zvířecí spongiformní encefalopatie léčivými přípravky<sup>1)</sup>



2001

- 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 Creutzfeldt-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 tkáň 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 tkáň ovce nakažené scrapie. U člověka byly popsány případy přenosu CJD, které se přisuzují opakovanému parenterálnímu podání růstového hormonu a gonadotropinu získaných 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,

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 13, 1, 48 (2001). Závazné od 1. 1. 2001.

kteří omezují mezidruhové šíření infekce, ale za určitých okolností mohou být překonány. To obvykle závisí na kmeni, dávce, cestě expozice a velikosti druhové bariéry. Studie na laboratorních zvířatech ukázaly, že nejúčinnější cestou je intracerebrální inokulace.

Lidé byli přirozeně vystavováni původci scrapie ovcí 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 postižovaných těmito chorobami jinak, než po experimentální čelenži, především od bovinních druhů.

Pro minimalizaci rizika kontaminace se tudíž má 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 statí

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 ovcí, koz a ostatních druhů, u kterých je známa vnímavost k TSE, vyvolaná jinak než po experimentální čelenži.

Ve světle současných vědeckých poznatků a bez ohledu na geografický původ není u mléka pravděpodobné riziko TSE kontaminace. Z tohoto důvodu mléko a suroviny pocházející pouze z mléka jsou vyloučeny z oblasti působnosti této statí za předpokladu, že mléko je získáváno ze zdravých zvířat za stejných podmínek jako mléko určené ke konzumaci lidmi. Suroviny pocházející z mléka přežvýkavců, vyrobené za použití jiných materiálů z přežvýkavců (např. rozklad kaseinu pankreatickými enzymy), nejsou vyloučeny z oblasti působení této statí kvůli použití těchto dalších materiálů z přežvýkavců.

Suroviny získané z vlny a srsti přežvýkavců, jako je lanolin, alkoholy z vlny a aminokyseliny, jsou rovněž vyloučeny z oblasti působnosti této statí, pokud vlna a srst pochází ze živých zvířat. Suroviny získané z vlny a srsti přežvýkavců vyrobené za použití jiných materiálů z přežvýkavců (jako jsou pankreatické enzymy) nejsou vyloučeny z oblasti působení této statí kvůli použití těchto dalších materiálů z přežvýkavců.

Tato stať se má 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 léčivých přípravků 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.

Výrobci mají uvádět údaje o zdroji materiálů (včetně geografického původu zvířat) a ostatních opatřeních vedoucích k minimalizaci rizika přenosu původců TSE. Výrobci léčivých přípravků mají provést audit u dodavatele těchto materi-

álů, aby se ujistili, že zdroje těchto materiálů i manipulace s nimi jsou v souladu s touto obecnou statí 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 materiálů**

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.

Mají být dostupné oficiální certifikace. Dále má 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, obsahujícího bílkoviny přežvýkavců, které pocházejících 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:**

- těla všech uhynulých nakažených zvířat byla zničena,
- potomstvo nakažených samic nebylo použito,
- je zakázáno krmit přežvýkavce bílkovinami pocházejícími ze savců.

Zvířata sloužící jako zdroj se mají 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 mají výrobci léčivých přípravků vysvětlit strategii získávání zdrojů ve vztahu ke kategoriím materiálů, k množství výchozího materiálu a k zamýšlenému použití hotových léčivých přípravků. 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, tkáně 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, má 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 tkáně 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 omrácením postupujícím 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 léčivých přípravků mají uvést odhad výše rizika.

### **Relativní titry nakažlivosti scrapie ve tkáních a tělních tekutinách přirozeně nakažených ovcí a koz s klinickými příznaky scrapie<sup>1</sup>**

#### **Kategorie I**

Vysoká nakažlivost            mozek, mícha, (oko)

#### **Kategorie II**

Střední nakažlivost            ileum, mízní uzliny, proximální kolon, slezina, mandle, (tvrdá plena, epifýza, placenta), mozkomíšní mok, hypofýza, nadledviny

#### **Kategorie III**

Nízká nakažlivost            distální kolon, nosní sliznice, periferní nervy, kostní dřev, játra, plíce, slinivka břišní, brzlík

#### **Kategorie IV**

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 tkáně, (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 inaktivizačních 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**

- Lůj používaný jako výchozí materiál pro výrobu lojových derivátů má 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 jistími postupy, byly předmětem specifického zvažování a jsou považovány za pravděpodobně neinfekční. Příklady jistících postupů jsou:

- transesterifikace nebo hydrolyza: nejméně 20 min při nejméně 200 °C pod tlakem (výroba glycerolu, mastných kyselin a jejich esterů),
- zmydelnění 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 mají 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 léčivých přípravků 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 čelenži). 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 dávce (denní dávce a trvání léčby),
- zamýšlené užití výrobku.

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 stati 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>1</sup> Tkáň uvedená 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 tkáně v množství do 5 mg do mozku hlodavců.

<sup>3</sup> Pro lebky a obratle, viz též bod 3.2 týkající se křížové kontaminace.

<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.

15. V příloze části 5 Všeobecné dodatky, texty Tabulek č. I až VI se doplňují:

”

## Tabulka I: Omamné a psychotropní látky

N

Obsahuje pouze lékopisné látky zařazené do ČL 97 - Dopln. 2001 podléhající ustanovením 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 a jeho novela zákon č. 354/1999 Sb. (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. (včetně změn uvedených v zákonech č. 354/1999 Sb. a č. 117/2000 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.)

§§ PETHIDINI HYDROCHLORIDUM

§§ SUFENTANILUM

### 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.)

§§† DEXTROPROPOXYPHENI HYDROCHLORIDUM

### Lékopisné psychotropní látky zařazené do seznamu IV

Příloha č. 7 k zákonu č. 167/1998 Sb.

§† DIKALII CLORAZEPAS

### Lékopisné prekursory zařazené do tabulky I

Příloha č. 9 k zákonu č. 167/1998 Sb.

(§)† EPHEDRINI HYDROCHLORIDUM  
 (§)†† ERGOTAMINI TARTRAS

## Tabulka II: Venena<sup>1)</sup>

**N**

Obsahuje léčiva velmi silně účinná (zvláště nebezpečné jedy) označené v lékopisu †† (Venena). V lékárnách se uchovávají v uzamčené skříni (seclusa) a označují se štítky s bílým písmem na černém pozadí.

ALFACALCIDOLUM  
 ALPROSTADILUM  
 CALCITRIOLUM  
 CALCIFEDIOLUM MONOHYDRICUM  
 COLECALCIFEROLI PULVIS  
 COLECALCIFEROLUM  
 COLECALCIFEROLUM DENSATUM OLEOSUM  
 COLECALCIFEROLUM IN AQUA DISPERGIBILE  
 DIGITOXINUM  
 (§) ERGOTAMINI TARTRAS  
 HISTAMINI DIHYDROCHLORIDUM  
 HOMATROPINI HYDROBROMIDUM  
 METHYLATROPINII BROMIDUM  
 NOREPINEPHRINI HYDROCHLORIDUM  
 PERGOLIDI MESILAS  
 SCOPOLAMINI HYDROBROMIDUM TRIHYDRICUM

## Tabulka III: Separanda<sup>1)</sup>

**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.

ACETYLCHOLINI CHLORIDUM	ALCURONII CHLORIDUM
ACIDUM HYDROCHLORICUM 35%	AMBROXOLI HYDROCHLORIDUM
ACIDUM NITRICUM 70%	AMILORIDI HYDROCHLORIDUM
ACIDUM SULFURICUM	DIHYDRICUM
ADENOSINUM	AMISULPRIDUM

<sup>1)</sup> Tato tabulka uvádí pouze lékopisné látky zařazené do ČL 97 - Dopl. 2001.

<sup>1)</sup> Tato tabulka uvádí pouze lékopisné látky zařazené do ČL 97 - Dopl. 2001.



AMLODIPINI BESILAS  
BENZATHINI BENZYL PENICILLINUM  
BENZYL PENICILLINUM KALICUM  
BENZYL PENICILLINUM NATRICUM  
BROMOCRIPTINI MESILAS  
BUSERELINUM  
CALCITONINUM SALMONIS  
CARBAMAZEPINUM  
CEFALOTINUM NATRICUM  
CEFOPERAZONUM NATRICUM  
CEFTAZIDIMUM PENTAHYDRICUM  
CHLORPROTHIXENI  
HYDROCHLORIDUM  
CILAZAPRILUM MONOHYDRICUM  
CIMETIDINI HYDROCHLORIDUM  
CISAPRIDIDI HYDROGENOTARTRAS  
CISAPRIDUM MONOHYDRICUM  
DAUNORUBICINI HYDROCHLORIDUM  
DESMOPRESSINUM  
§§ DEXTROPROPOXYPHENI  
HYDROCHLORIDUM  
DICLOFENACUM KALICUM  
§ DIKALII CLORAZEPAS  
DIPHENHYDRAMINI  
HYDROCHLORIDUM  
EMETINI DIHYDROCHLORIDUM  
HEPTAHYDRICUM  
(§) EPHEDRINI HYDROCHLORIDUM  
ERGO CALCIFEROLUM  
ESTROGENA CONIUGATA  
ETOMIDATUM  
FLUMEQUINUM  
FLUMETASONI PIVALAS  
FLUOCINOLONI ACETONIDUM  
PROCAINI BENZYL PENICILLINUM MONOHYDRICUM  
PROTIRELINUM  
PYRIDOXINI HYDROCHLORIDUM  
RISPERIDONUM  
SELEGILINI HYDROCHLORIDUM  
SIMVASTATINUM  
SPIRAMYCINUM  
STANOSZOLOLUM  
SULFANILAMIDUM  
SUMATRIPTANI  
HYDROGENOSUCCINAS  
SUXAMETHONII CHLORIDUM  
DIHYDRICUM  
SUXIBUZONUM  
FLURBIPROFENUM  
GLICLAZIDUM  
GONADORELINI ACETAS  
GRAMICIDINUM  
HYDROXYZINI DIHYDROCHLORIDUM  
IMIPRAMINI HYDROCHLORIDUM  
IODUM  
IPECACUANHAE TINCTURA  
NORMATA  
KETAMINI HYDROCHLORIDUM  
LEVOCABASTINI HYDROCHLORIDUM  
LEVODROPROPIZINUM  
LIDOCAINI HYDROCHLORIDUM  
MONOHYDRICUM  
LOVASTATINUM  
MEFLOQUINI HYDROCHLORIDUM  
METOCLOPRAMIDUM  
MORANTELI HYDROGENOTARTRAS  
NATRII ALENDRONAS TRIHYDRICUS  
NATRII PICOSULFAS  
MONOHYDRICUS  
NIMESULIDUM  
NOMEGESTROLI ACETAS  
NOSCAPINI HYDROCHLORIDUM  
MONOHYDRICUM  
OLSALAZINUM DINATRICUM  
OPRENOLOLI HYDROCHLORIDUM  
OXYTOCINUM  
PAPAVERINI HYDROCHLORIDUM  
PHENOLPHTHALEINUM  
PHENYLHYDRARGYRI BORAS  
PIRETANIDUM  
PIROXICAMUM  
PRIMAQUINI DIPHOSPHAS  
TANACETI PARTHENII HERBA  
TETRACAINI HYDROCHLORIDUM  
TETRACOSACTIDUM  
THIAMINI HYDROCHLORIDUM  
TIAPRIDIDI HYDROCHLORIDUM  
TICLOPIDINI HYDROCHLORIDUM  
TIMOLOLI HYDROGENOMALEAS  
TRAPIDILUM  
TRIFLUOPERAZINI  
HYDROCHLORIDUM  
VITAMINI A PULVIS  
VITAMINUM A  
VITAMINUM A DENSATUM OLEOSUM  
VITAMINUM A IN AQUA  
DISPERSIBILE

## Tabulka IV: Doporučené terapeutické dávky léčiv pro dospělé

# N

Seznam použitých zkratek, viz ČL 97, str. 722, zjednodušené zkratky maximálních dávek, viz <sup>1)</sup>.

Název	Způsob podání	Dávky (g) pokud není uvedeno jinak			Poznámka
		Jednotlivá dávka	Denní dávka	Maximální dávka <sup>1)</sup>	
ACETYLCHOLINII CHLORIDUM	s.c., i.m.	0,05-0,1	0,05-0,2	0,2/sing. 0,4/p.die	<sup>1)</sup> sing. = maximální dávka jednotlivá p.die = maximální dávka denní
ADENOSINUM	loc				oční kapky
	i.v.	0,003-0,012		12 mg/sing.	Možno podat bolusově maximálně 3 dávky: 1. dávka 3 mg, 2. dávka 6 mg, 3. dávka 12 mg.
ALPROSTADILUM	i.v.	20 µg-40 µg	50 µg- 200 µg		Podává se 7-28 dnů, 1-2 × denně ve dvouhodinové infuzi.
	intra- vernózně	10-20 µg			
AMBROXOLI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,03	0,06-0,09		2-3 × denně nebo retardované tablety 75 mg 1 × denně
	p.rect.	0,015-0,03	0,06-0,09		
	i.v., i.m., s.c.	7,5-15 mg	0,045-0,09	30 mg/kg/den	1-3 × denně
	inhal.	0,015-0,022	0,06-0,18		Pomocí inhalátoru nebo nebulizátoru v objemu 2-3 ml, 1-2 × denně.
AMISULPRIDUM	p.o.	0,05-0,2	0,4-0,8		obvykle 0,4-0,8 denně u schizofrenie, 0,2 u depresí
	i.m.	0,1-0,2	0,4-0,8	1,2/p.die	
AMLODIPINI BESILAS	p.o.	0,005-0,01	0,005-0,01		vyjádřeno jako amlodipin
BISMUTHI SUBGALLAS	loc.	0,05-0,2	0,2-1,0		lokálně v kombinovaných přípravcích
BISMUTHI SUBNITRAS PONDEROSUS	p.o.	0,5			
BISMUTHI SUBSALICYLAS	p.o.	0,3-0,6	0,9-1,8	4,0	Podává se nejdéle 8 týdnů, znovu možno po 3 měsících; vyjádřeno jako cimetidin.
CENTELLA ASIATICAE HERBA	p.o.	0,33-0,68	1,8		

CILAZAPRILUM MONOHYDRICUM	p.o.	0,0025- 0,005	0,0025-0,005		Úvodní dávka je 1 × denně 1 mg, u renálního selhání nebo při renovaskulární insuficienci zahájit nižšími dávkami.
CINNAMOMI CASSIAE ETHEROLEUM	p.o.	0,028	0,05-0,2		
CINNAMOMI CEYLANICI CORTICIS ETHEROLEUM	p.o.	0,028	0,05-0,2		
COLAE SEMEN	p.o.	1,0-3,0	2,0-6,0		
CYNOSBATI PSEUDO-FRUCTUS	p.o.	3,0	12,0-18,0		
DEXTRANUM I PRO INIECTIONE	i.v.	3,0			Obvykle 20 ml roztoku o obsahu 0,15/ml. Podává se 1-2 min před podáním výšemolekulárního dextranu.
DICLOFENACUM KALICUM	p.o.	0,025-0,05	0,05-0,1	0,1/sing. 0,15/p.die	
ESTROGENA CONIUGATA	p.o.	0,3-1,250	0,3-2,5		Podává se 21 dnů, počínaje 5. dnem cyklu, 7 dní pauza; je vhodné kombinovat s progesteronem nebo progestiny.
	i.v., i.m. vagin.	0,025	0,05		při masivním uterinním krvácení
			0,06-0,25		
ETOFENAMATUM	loc.	5-10% gel, 10% krém, lotio, spray			Nanáší se 3-4 × denně.
	i.m.	1,0	1,0		Podává se hluboko intragluteálně 1 × denně, nejvýše po dobu 5 dnů.
ETOMIDATUM	i.v.	0,15-0,3 mg/kg		0,06/sing.	
FERRI CHLORIDUM HEXAHYDRICUM	i.v.				Součást parenterálních směsí; 1,1 mg/100 g, vyjádřeno jako Fe.
FLUMEQUINUM	p.o.	0,4	1,2		
FLURBIPROFENUM	p.o., p.rect. transderm.	0,05-0,1 0,04	0,1-0,2 0,08	0,3/p.die	2-3x denně; retardované formy (0,2) 1 × denně ve formě náplasti

FOSCARNETUM NATRICUM HEXAHYDRICUM	i.v., inf.			0,09-0,12/ kg		Zahájí se 0,02/kg kontinuální infuzí (katétre a infuzní pumpou), dále každých 8 h 0,06/kg, podle clearance kreatininu.
GINGSENG RADIX	p.o.	1,0		1,0-2,0		
GLICLAZIDUM	p.o.	0,04-0,08		0,04-0,32		
IFOSFAMIDUM	i.v., inf.	nejvýše 4% roztok		0,02-0,06/kg		Podává se 5 dnů, opakuje se po 2-4 týdnech.
JUNIPERI FRUCTUS	p.o.	0,5		1,0-1,5		
LAVANDULAE FLOS	p.o.	1,0		2,0-3,0		
	loc.	12,0 g/l		24,0 g/l		ke koupelím
LEVOCABASTINI HYDROCHLORIDUM	loc.	0,05% oční kapky				1 kapku do spojivkového vaku 2-4 × denně; vyjádřeno jako levocabastin
LEVODROPRIZINUM	p.o.	0,05% nosní spray				1 dávku do každého nosního průduchu 2 × denně; vyjádřeno jako levocabastin
		0,06		0,18		Podává se nejvýše 7 dnů.
LOVASTATINUM	p.o.	0,01-0,04		0,02-0,04	0,08	Podává se nejlépe na noc.
LYTHRI HERBA	p.o.	2,0-4,0		6,0-12,0		
	loc.					k omývání, obkladům, koupelím
MAGALDRATUM	p.o.	1,6		6,0		forma žvýkacích tablet
MALVAE SYLVESTRIS FLOS	p.o.	1,5		5,0		
MANGANI SULFAS MONOHYDRICUS	p.o.					součást směsných přípravků
MATRICARIAE EXTRACTUM	p.o.	4,5		13,5-18,0		
FLUIDUM	loc.	9,0-18,0/l		18,0-36,0/l		k omývání, obkladům, koupelím
METHENAMINUM	p.o.	1,0		4,0		
MYRISTICAE FRAGRANTIS ETHEROLEUM	p.o.	0,028		0,084		
NATRII ALENDRONAS TRIHYDRICUS	p.o.	0,01		0,01		vyjádřeno jako acidum alendronicum
NATRII MOLYBDAS DIHYDRICUS	p.o.					součást směsných přípravků
NIMESULIDUM	p.o., p.rect.	0,1		0,2	0,4	
NOMEGESTROLI ACETAS	p.o.	0,005		0,005		Podává se od 16. do 25. dne cyklu.

PERGOLIDI MESILAS	p.o.	0,5 mg	1-3 mg	0,005	Zahajuje se 5 µg, po 3 dnech se zvyšuje o 100 µg-250 µg až na 3 mg denně; vyjádřeno jako pergolid. podává se obvykle večer u renálního selhání 2x denně 0,018 Účinek trvá 6-10 min. U starších rizikových pacientů 0,001-0,0015/kg/h.
PHENOLPTHALEINUM	p.o.	0,1-0,2	0,1-0,2	0,3/sing.	
PIRETANIDUM	p.o.		0,006-0,012	0,024	
PROPOFOLUM	i.v.	2-2,5/kg			
	i.v., inf.	0,006-0,012/kg/h			
RISPERIDONUM	p.o.	0,001-0,002	0,002-0,006	0,01	Po dávkách vyšších než 0,01 denně mohou nastat mírné extrapyramidové příznaky.
ROSMARINI FOLIUM	p.o.	1,5	5,0		k vanové koupeli
	loc.	50,0			
SALICIS CORTEX	p.o.	3,0	6,0-9,0		
SALVIAE TRILOBAE FOLIUM	p.o.	1,5	1,5-3,0		ke kloktání a výplachům ústní dutiny
	loc.	2,5	5,0-7,5		Podává se v jedné dávce večer před nebo při jídle.
SIMVASTATINUM	p.o.	0,01-0,04	0,01-0,04	0,08	
STANZOLOLUM	p.o.		0,002-0,01		
	i.m.	0,05			Podává se každé 2-3 týdny.
SUFENTANILUM	i.v.	0,5 µg-20 µg/kg			při spontánním dýchání 1-2 µg/kg titračně, dále 10-25 µg/kg, při umělé ventilaci 8 µg/kg
	s.c.	0,006	0,012	0,012/p.die	
	intranas.	0,01-0,02			
SUMATRIPTANI	p.o.	0,05-0,1	0,3	0,3	Počítáno jako sumatriptan.
HYDROGENO SUCCINAS	s.c.	0,006	0,012	0,012	
	intranas.	0,01-0,02		0,02/p.die	
SUXIBUZONUM	loc.	7% topické přípravky			
TANACETI PARTHENII HERBA	p.o.	0,1-0,2	0,2-0,6		
TIAPRID	i.v., i. m.	0,1-0,15	0,2-0,8	1,2/p.die	0,2-0,4 v gerontologii; 0,3-1,2 při chronickém alkoholismu; 1,6-1,8 při deliriu tremens (počítáno jako tiaprid).
HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,1	0,3-0,4		
TRAPIDILUM	p.o.	0,1-0,2	0,2-0,6		
ZINGIBERIS RHIZOMA	p.o.	0,2-0,5	2,0-4,0		

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 *Pokud není uvedeno jinak
		g/kg/den	0-1 rok	1-6 let	6-15 let	
ADENOSINUM	i.v.	37,5-250 µg/kg				
ALPROSTADILUM	i.v., inf.	0,01-0,05 µg/kg/min				Rychlost infuze se postupně snižuje na 1/2 až 1/4.
AMBROXOLI HYDROCHLORIDUM	p.o.			7,5 mg	0,015	děti mladší 2 let 2 × denně 7,5 mg; 2-5 let 3 × denně 7,5 mg; děti 5-12 let 3 × denně 0,015
	p.rect.				0,015	Nepřekročit dávku 0,12 /den.
	i.v., i.m.	1,2-1,6 mg	0,015	0,022	0,03	Podává se 1-2 × denně.
	inhal.			7,5 mg	0,015	pomocí inhalátoru nebo nebulizéru v objemu 2 ml, 1-2 × denně
BISMUTHI SUBGALLAS	loc.				0,15-1,0	lokálně v kombinovaných přípravcích
CIMETIDINI HYDROCHLORIDUM	i.v., inf.	0,02				ve 2-4 dílích dávkách; vyjádřeno jako cimetidinum
CINNAMOMI CASSIAE ETHEROLEUM	p.o.	0,05			0,05-0,2	
CINNAMOMI CEYLANICI CORTICIS ETHEROLEUM	p.o.	0,05-0,2			0,05-0,2	
CYNOBATI PSEUDO-FRUCTUS	p.o.	3,0		9,0	12,0	
DEXTRANUM I PRO INIECTIONE	i.v.	0,05				Obvykle 0,3 ml roztoku o obsahu 0,15/ml. Podává se 1-2 min před podáním výšermole- kulárního dextranu.
ETOMIDATUM	i.v.	0,4 mg/kg				U dětí mladších 15 let je obvyklá dávka pro dospělé až o 30 % vyšší.

FERRI CHLORIDUM HEXAHYDRICUM	i.v.								Ve směsných přípravcích 1,1 mg/100 ml; vyjádřeno jako Fe.
GINGSENG RADIX	p.o.	0,5-1,0						0,5-1,0	
JUNIPERI FRUCTUS	p.o.	0,25						0,75	
LAVANDULAE FLOS	p.o.	1,0	2,0-3,0						ke koupelím
	loc.	12,0 g/l	24,0-36,0						
LEVOCABASTINI HYDROCHLORIDUM	loc.								1 kapka do spojivkového vaku 2 × denně, 1 dávka do každého nosního prů- duchu 2 × denně; podávat dětům starším 6 let.
LEVODROPROPIZINUM	p.o.	0,001							Podává se dětem starším 2 let; 3 × denně.
MALVAE SYLVESTRIS FLOS	p.o.	5,0	1,5		3,0			5,0	
MATICARIAE EXTRACTUM FLUIDUM	p.o.	13,5	4,5		9,0			13,5-18,0	
	loc.	9,0	9,0-18,0		9,0-18,0			18,0-36,0	k omyváni, obkladům, koupelím
METHENAMINUM	p.o.	0,06						2,0	
NIMESULIDUM	p.o.	0,005							dětem od 12 let 0,005/kg/den ve dvou dílčích dávkách.
PIRETANIDUM	p.o.							0,05	Podává se obvykle na noc; dětem od 3 do 6 let 25 mg.
PROPOFOLUM	i.v.	0,002-0,0025							Nepodává se dětem mladším 3 let.
	i.v., inf.	0,006- 0,012/kg/h							
SALVIAE TRILOBAE FOLIUM	p.o.	5,0			1,5			3,0	
	loc.				2,5			5,0-7,5	ke kloktání, výplachům, koupelím
STANZOLOLUM	p.o.				0,002- 0,0025			0,002-0,006	
SUFENTANILUM	i.v.		1-5 µg/kg		1-15 µg/kg			1-15 µg/kg	Dětem 2-12 let při spontánním dýchání dávku 1-2 g/kg, titračně pokračovat dávkou 10-20 µg/kg.
TIAPRID HYDROCHLORIDUM	p.o.							0,05-0,1	dětem 7-12 let 3 × denně dávku 0,05; dětem starším 12 let 3 × denně dávku 0,1

**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.

U léčiv označených (\*) se jedná o změnu proti ČL 97.

**ALBENDAZOLUM**

**Farmakologická skupina, použití:** anthelmintika

**Dávky:**

p.o. B: 7,5 mg.kg<sup>-1</sup> (antinematodum)

**CIMETIDINUM\***

**Farmakologická skupina, použití:** antiulceróza

**Dávky:**

p.o. E, hříbě: 20 mg.kg<sup>-1</sup> každých 8-24 h

E: 8,8 mg.kg<sup>-1</sup> každých 4-6 h

C: 5-10 mg.kg<sup>-1</sup> každých 6-8 h

F: 2,5-5 mg.kg<sup>-1</sup> každých 6-8 h

i.v. E, hříbě: 6,6-8-10 mg.kg<sup>-1</sup> každých 4-6 h

C: 5 mg.kg<sup>-1</sup> každých 12 h

F: 2,5-5 mg.kg<sup>-1</sup> každých 6-8 h

i.v. infuze: E: 1,1-2,2 mg/kg/h

C: 0,25-3 mg/kg/h

**FLUMEQUINUM**

**Farmakologická skupina, použití:** chemoterapeutika

**Dávky:**

p.o. O, Cp, tele, G: úvodní 12 mg.kg<sup>-1</sup>, udržovací 6 mg.kg<sup>-1</sup> každých 12 h

S, C: úvodní 15 mg.kg<sup>-1</sup>, udržovací 7,5 mg.kg<sup>-1</sup> každých 12 h

p.o. v krmivu ryby: 12-25 mg.kg<sup>-1</sup> každých 24 h, také 6 mg.kg<sup>-1</sup> každých 12 h po dobu 6 dní

i.m. E, B: úvodní 6-10 mg.kg<sup>-1</sup>, udržovací 5 mg.kg<sup>-1</sup> každých 12 h

hříbě, tele: úvodní 12-20 mg.kg<sup>-1</sup>, udržovací 6-10 mg.kg<sup>-1</sup> každých 12 h

S, sele, C: úvodní 15 mg.kg<sup>-1</sup>, udržovací 7,5 mg.kg<sup>-1</sup> každých 12 h

O, Cp, G: úvodní 12 mg.kg<sup>-1</sup>, udržovací 6 mg.kg<sup>-1</sup> každých 12 h

**METHENAMINUM**

**Farmakologická skupina, použití:** antiseptika; antiseptikum močových cest; antidota

**Dávky:**

p.o. E: 10,0 každých 8 h

B: 15,0 každých 8 h

O, Cp.: 1,0-3,0 každých 8 h

S: 2,0-5,0

C: 0,5-2,0 každých 8 h

F: 0,3

G: 0,001-0,03

i.v. (zvolna) obecně: 50-80 mg.kg<sup>-1</sup> (jako 40% roztok, antidotum)



**MORANTELI HYDROGENOTARTRAS****Farmakologická skupina, použití:** anthelmintika**Dávky:**

p.o. B: 8,8-10 mg.kg<sup>-1</sup> (prášek)  
B (nad 100 kg ž.h.): 11,8-13,5 (v intraruminálním inzertu na minimálně 90 dní)  
O: 10 mg.kg<sup>-1</sup> (prášek)

**OXYTETRACYCLINI HYDROCHLORIDUM\*****Farmakologická skupina, použití:** antibiotika**Dávky:**

p.o. obecně (kromě přežvýkavců a ryb): 10-55 mg.kg<sup>-1</sup> rozděleně během 24 h  
tele: 23 mg.kg<sup>-1</sup>  
S, sele, C,F: 33-44 mg.kg<sup>-1</sup>  
G: až 55,0 ve 100 litrech vody  
ryby (kapr): 40-60 mg.kg<sup>-1</sup> každých 24 h, také 75 mg.kg<sup>-1</sup> každých  
72 h (max. 4×)  
i.m., s.c. velká zvířata: 1,5-4 mg.kg<sup>-1</sup>  
i.v. malá zvířata: 5-10 mg.kg<sup>-1</sup>

**PROPOFOLUM****Farmakologická skupina, použití:** anestetika (celková)**Dávky:**

i.v. C: 6-7 mg.kg<sup>-1</sup> (bez premedikace)  
4 mg.kg<sup>-1</sup> (indukce s premedikací)  
F: 8 mg.kg<sup>-1</sup> (bez premedikace)  
6 mg.kg<sup>-1</sup> (indukce s premedikací)  
C, F: 2,5-5 mg.kg<sup>-1</sup> (bez premedikace, prodlužování anestezie)  
nebo infuze 0,2-0,4 mg/kg/min (bez premedikace, prodlužování anestezie - podle reakce)

**SULFANILAMIDUM****Farmakologická skupina, skupina:** chemoterapeutika**Dávky:**

p.o. obecně: 0,12-0,15 g.kg<sup>-1</sup> rozděleně na 3-4 díly během 24 h  
E: 38-50 mg.kg<sup>-1</sup> každých 8 h  
B: 75-88 mg.kg<sup>-1</sup> každých 12 h  
O, Cp, S: 40-60 mg.kg<sup>-1</sup> každých 8 h  
sele, kůzle: 50 mg.kg<sup>-1</sup> každých 8 h  
C (velký, ž.h. 25 kg): 50-70 mg.kg<sup>-1</sup> každých 8 h  
(střední, ž.h. kolem 10 kg): 50-75 mg.kg<sup>-1</sup> každých 8 h  
(trpasličí, ž.h. 2-3 kg): 40-60 mg.kg<sup>-1</sup> (každých 8 h)  
F: 40-60 mg.kg<sup>-1</sup> (každých 8 h)

16. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články *Acaciae gummi* a *Acaciae gummi dispersione desiccata* znějí:

”

## 6.1 Léčivé a pomocné látky

### Acaciae gummi

Arabská klovatina

*Synonymum.* Gummi arabicum



Je to na vzduchu ztvrdlá klovatina vytékající samovolně nebo získaná po naříznutí kmene a větví druhu *Acacia senegal* L. WILLD. a jiných afrických druhů rodu *Acacia*.

#### Vlastnosti

Je velmi zvolna (asi po 2 h) a téměř beze zbytku rozpustná ve dvojnásobném množství vody; rostlinné částice mohou být přítomny jen ve velmi malém množství.

Získaná tekutina (sliz) je bezbarvá nebo nažloutlá, hustá, viskózní, lepivá, průsvitná, na lakmusový papír reaguje kyselě. Arabská klovatina je prakticky nerozpustná v lihu 96%.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

#### Zkoušky totožnosti

- A.** Okrouhlé, oválné nebo ledvinovité kousky (kapky) o průměru 1 cm až 3 cm. Jsou nažloutlé, žluté nebo světle jantarové, občas s narůžovělým odstínem, drobné, neprůhledné, na povrchu často popraskané, snadno se lámající na nepravdělné, bělavé nebo lehce nažloutlé hranaté úlomky, sklovité, průhledné; lom lasturovitý. Ve střední části celých, nerozlámaných kapek občas drobná dutina.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je bílý nebo nažloutlý. Pozoruje se pod mikroskopem v *glycerolu R* 50 % (V/V). Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: hranaté, nepravidelné, bezbarvé, lesklé úlomky. Mohou být patrné jen stopy škrobu nebo rostlinných tkání. Nejsou přítomny vrstevnaté membrány.
- C.** Ke 2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 8 ml *vody R*; roztok je levotočivý.
- D.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Glukosa a fruktosa, viz Zkoušky na čistotu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou tři skvrny odpovídající galaktose, arabinose a rhamnose; zejména v horní části chromatogramu nejsou zřetelné žádné další důležité skvrny.
- E.** 1 g práškové drogy (355) se častým mícháním po dobu 2 h rozpustí ve 2 ml *vody R* a přidají se 2 ml *lihu 96% R*. Po protřepání vznikne bílý, želatinózní sliz; po přidání 10 ml *vody R* vznikne tekutina.

#### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 3,0 g práškové drogy (355) se mícháním po dobu 30 min rozpustí v 25 ml *vody R*. Nechá se 30 min stát a zředí se jí na 30 ml.

**Nerozpustné látky.** 5,0 g práškové drogy (355) se smíchá se 100 ml *vody R* a 14 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, mírně se vaří 15 min za častého protřepávání. Ještě horký roztok se filtruje předem zvažným filtrem ze slinutého skla. Filtr se promyje horkou *vodou R* a vysuší se při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 25 mg (0,5 %).

**Glukosa a fruktosa.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** K 0,100 g práškované drogy (355) v tenkostěnné odstředivkové zkumavce se přidají 2 ml roztoku kyseliny trifluoroctové *R* (100 g/l) a intenzivně se protřepává, aby se odstranil vznikající gel. Pak se zkumavka uzavře a směs se 1 h zahřívá při 120 °C. Hydrolyzát se odstředí a čirá supernatantní tekutina se opatrně převede do 50ml baňky, přidá se 10 ml vody *R* a odpaří se do sucha pod sníženým tlakem. K vzniklému čirému filmu se přidá 0,1 ml vody *R* a 0,9 ml methanolu *R* a odstředuje se, tak aby se oddělila amorfní sraženina. Pokud je to nutné, supernatantní tekutina se zředí methanolem *R* na 1 ml.

**Porovnávací roztok.** 10 mg arabinosy *R*, 10 mg galaktosy *R*, 10 mg glukosy *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 každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného *R* (16 g/l), 1-butanolu *R* a acetonu *R* (10 + 40 + 50) po dráze 10 cm. Vrstva se suší několik minut v proudu horkého vzduchu a vyvíjí se ještě jednou, za výše uvedených podmínek po dráze 15 cm. Vrstva se suší 10 min při 110 °C, postříká se anisaldehydem *RS* a zahřívá se 10 min při 110 °C. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je pět zřetelně oddělených barevných skvrn odpovídajících galaktose (šedozelená až zelená), glukose (šedá), arabinose (žlutozelená), xylose (zelenošedá až žlutošedá) a rhamnose (žlutozelená) v pořadí vzrůstajícího *R<sub>f</sub>*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není mezi skvrnami, odpovídajícími galaktose a arabinose na chromatogramu zkoušeného roztoku, žádná šedá nebo šedozelená skvrna.

**Škrob, dextrin a agar.** 10 ml roztoku *S* se zahřeje k varu, po ochlazení se přidá 0,1 ml jodu 0,05 mol/l *VS*; nevznikne modré nebo hnědočervené zbarvení.

#### Slizy z rostlin rodu *Sterculia*.

**A.** 0,2 g práškované drogy (355) se v 10ml odměrném válci se zabroušenou zátkou děleném po 0,1 ml protřepává s 10 ml lihu 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*.

**Třísloviny.** 10 ml roztoku *S* se smíchá s 0,1 ml chloridu železitého *RS1*; vznikne želatinózní sraženina; sraženina ani roztok se však nezbarví tmavě modře.

**Tragant.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Glukosa a fruktosa, viz Zkoušky na čistotu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku nejsou žádné zelenošedé nebo žlutošedé skvrny odpovídající xylose na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 15,0 %; 1,000 g práškované drogy (355) se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C. Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 4,0 %.

**Mikrobiální znečištění.** Nejvýše 10<sup>4</sup> živých aerobních mikroorganismů v gramu; stanoví se metodou počítání na pevných půdách (2.6.12). Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* (2.6.13).

#### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

---

## Acaciae gummi dispersione desiccatum

Arabská klovatina usušená rozprášením

2001 

Získává se z roztoku arabské klovatiny. (Získává se sušením roztoku arabské klovatiny v rozprašovací sušárně.)

#### Vlastnosti

Vyhovuje požadavkům článku *Acaciae gummi*. Je úplně a rychle rozpustná po asi 20 min ve dvojnásobném množství vody.

**Zkoušky totožnosti**

Pozoruje se pod mikroskopem v *lihu 96% R*. Zkoušená látka je tvořena převážně kulovitými částicemi o průměru 4 μm až 40 μm; uprostřed s dutinou obsahující jednu nebo několik vzduchových bublin, několik minut jsou patrné ploché úlomky. V polarizovaném světle nejsou patrna zrnka škrobu (černý kříž protínající hilum). Nejsou patrné rostlinné tkáně.

Vyhovuje též Zkouškám totožnosti C, D a E článku *Acaciae gummi* s následující úpravou:

E. 1 g zkoušené drogy se za častého míchání (asi 20 min) rozpustí ve 2 ml *vody R* a přidají se 2 ml *lihu 96% R*. Po protřepání vznikne bílý, želatinózní sliz; po přidání 10 ml *vody R* vznikne tekutina.

**Zkoušky na čistotu**

S výjimkou zkoušky Nerozpustné látky, která se neprovádí, vyhovuje Zkouškám na čistotu článku *Acaciae gummi*, s následujícími úpravami:

**Roztok S.** 3,0 g zkoušené drogy se mícháním po dobu 10 min rozpustí v 25 ml *vody R*. Nechá se 20 min stát a zředí se jí na 30 ml.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 10,0 %. 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

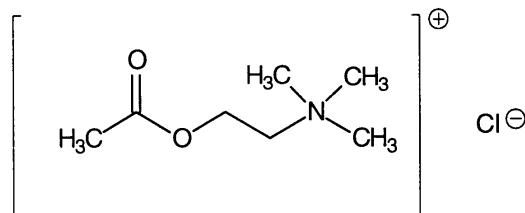
“

17. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Acetylcysteinum doplňuje článek Acetylcholinii chloridum, který zní:

”

**† Acetylcholinii chloridum**

Acetylcholiniumchlorid

*Synonymum.* Acetylcholini chloridum2001 C<sub>7</sub>H<sub>16</sub>ClNO<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 181,66

CAS 60-31-1

Je to 2-acetoxyethyltrimethylamoniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny C<sub>7</sub>H<sub>16</sub>ClNO<sub>2</sub>.

<sup>1)</sup> 2-acetoxyethyltrimethylamonium-chlorid

## Vlastnosti

*Vzhled.* Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je velmi hygroskopický.

*Rozpustnost.* Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, těžce rozpustný v dichlormethanu.

## Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek: B a E.*

*Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).*

**A.** Teplota tání. (2.2.14). 149 °C až 152 °C.

Zkoušená látka se naplní do kapiláry a suší se 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C. Potom se kapilára zataví a stanoví se teplota tání.

**B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

*Porovnání s acetylcholiniumchloridem CRL.*

**C.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu.

*Hodnocení.* Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**D.** K 15 mg se přidá 10 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, 2 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l RS* a zahřeje se. Vznikající páry barví *papír lakmusový červený R* modře.

**E.** 0,5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 5,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $\check{Z}_6$  nebo  $H\check{Z}_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Kyselý reagující látka.** 1 ml roztoku S se zředí *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 10 ml a přidá se 0,05 ml *fenolftaleinu RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na růžové se spotřebuje nejvýše 0,4 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27).

*Roztoky se připravují těsně před použitím.*

*Zkoušený roztok (a).* 0,30 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 3,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 100 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 20,0 mg *acetylcholiniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 2,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 20 mg *choliniumchloridu R* se rozpustí v *methanolu R*, přidá se 0,4 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se *methanolem R* na 2,0 ml.

*Stacionární fáze.* Deska s vrstvou *silikagelu pro TLC R*.

*Mobilní fáze.* Směs objemových dílů roztoku *dusičnanu amonného R* (40 g/l), *methanolu R* a *acetonnitrilu R* (20 + 20 + 60).

*Nanášení.* Po 5  $\mu$ l do proužků 10 mm  $\times$  2 mm.

*Vyvíjení.* Po dráze delší než 2/3 vrstvy.

*Detekce.* Vrstva se postříká *jodobismutitanem draselným RS3*.

*Test způsobilosti.* Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

*Limit.* Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %).

**Trimethylamin.** 0,1 g se rozpustí v 10 ml *uhlíčitánu sodného RS* a zahřeje se k varu. Vznikající páry nebarví *papír lakmusový červený R* modře.

**Těžké kovy (2.4.8).** Nejvýše 10 µg/g. 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy. 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 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se zbytkem ze zkoušky Ztráta sušením.

### Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí ve 20 ml vody *prosté oxidu uhličitého R*, zneutralizuje se *hydroxidem sodným 0,01 mol/l RS* za použití *fenolftaleinu RS* jako indikátoru, přidá se 20,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* a nechá se 30 min stát. Titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS*.

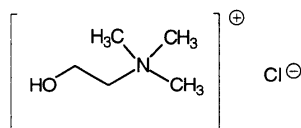
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 18,17 mg  $C_7H_{16}ClNO_2$ .

### Uchovávání

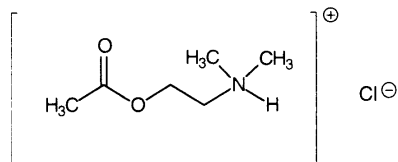
V ampulích, chráněn před světlem.

Separandum.

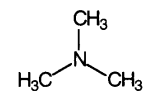
### Nečistoty



A. 2-hydroxyethyltrimethylamoniumchlorid (choliniumchlorid)<sup>2)</sup>,



B. 2-acetoxyethyltrimethylamoniumchlorid<sup>3)</sup>,



C. trimethylamin.

<sup>2)</sup> 2-hydroxyethyltrimethylamonium-chlorid (cholinium-chlorid)

<sup>3)</sup> 2-acetoxyethyltrimethylamonium-chlorid

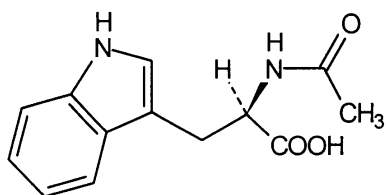
18. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Acetyltryptophanum zní:

”

## 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

Je-li vyráběn postupem zahrnujícím fermentační kroky, vyhovuje požadavkům uvedeným v článku *Producta fermentationis*. Tryptofan použitý k výrobě acetyltryptofanu vyhovuje zkoušce na 1,1'-Etylidenbistryptofan a jiné 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.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  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 zabarvení.

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).  $-0,1^\circ$  až  $+0,1^\circ$ ; 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 $\mu$ m),
- 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 dle 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  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je na získaném chromatogramu rozlišení mezi piky acetyltryptofanu a 1,1'-ethylidenbistryptofanu nejméně 8,0. V případě potřeby se upraví čas gradientového programu. S prodlužující se dobou eluce mobilní fází A se prodlužují retenční časy a zlepšuje se rozlišení.



Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 20  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{g/g}$ ). Připraví se porovnávací roztok za použití 0,2 ml základního roztoku amonia (100  $\mu\text{g NH}_4/\text{ml}$ ).

**Těžké kovy** (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10  $\mu\text{g/g}$ ). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

**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  $\mu\text{g/g}$ ).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,200 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).

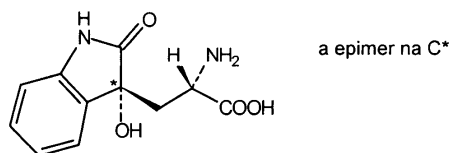
1 ml *hydroxidu sodného* 0,1 mol/l VS odpovídá 24,63 mg  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ .

### Uchovávání

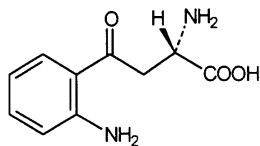
Chráněn před světlem.

### Nečistoty

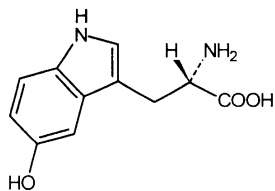
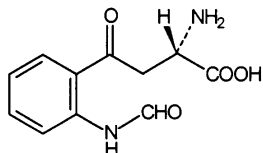
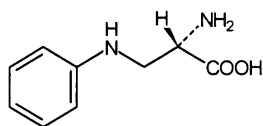
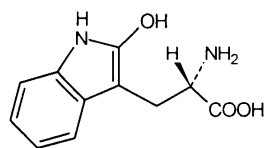
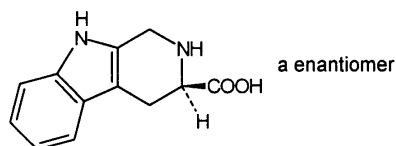
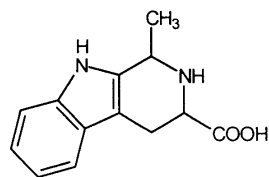
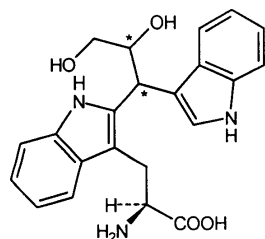
A. tryptofan,

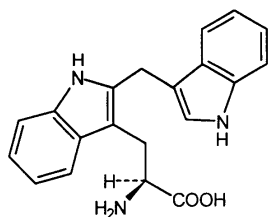


B. kyselina (S)-2-amino-3-[(3RS)-3-hydroxy-2-oxo-2,3-dihydro-1H-indol-3-yl]propanová (dioxindolylalanin),

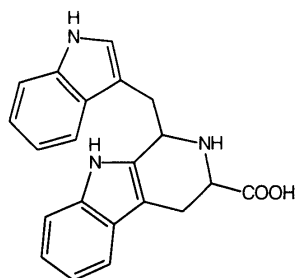


C. kyselina (S)-2-amino-4-(2-aminofenyl)-4-oxobutanová (kynurenin),

D. kyselina (*S*)-2-amino-3-(5-hydroxy-1*H*-indol-3-yl)propanová (5-hydroxytryptofan),E. kyselina (*S*)-2-amino-4-[2-(formylamino)fenyl]-4-oxobutanová (N-formylkynurenin),F. kyselina (*S*)-2-amino-3-(fenylamino)propanová (3-fenylaminoalanin),G. kyselina (*S*)-2-amino-3-(2-hydroxy-1*H*-indol-3-yl)propanová (2-hydroxytryptofan),H. kyselina (3*RS*)-1,2,3,4-tetrahydro-9*H*- $\beta$ -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.

“

19. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Acidum hydrochloricum 10% a Acidum hydrochloricum 35% znějí:

”

## Acidum hydrochloricum 10%

Kyselina chlorovodíková 10%

*Synonymum.* Acidum hydrochloricum dilutum



2001

Obsahuje 9,5 % až 10,5 % sloučeniny HCl ( $M_r$  36,46).

### Příprava

Ke 274 g kyseliny chlorovodíkové 35 % se přidá 726 g vody *R* a promíchá se.

### Zkoušky totožnosti

- Roztok je silně kyselý (2.2.4).
- Vyhovuje zkouškám na chloridy (2.3.1).
- Rozmezí pro stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

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

**Volný chlor.** K 60 ml se přidá 50 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, 1 ml roztoku *jodidu draselného R* (100 g/l) a 0,5 ml *škrobu prostého jodidu RS* a nechá se 2 min stát na tmavém místě. Případně vzniklé modré zbarvení zmizí po přidání 0,2 ml *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS* (1 µg/g).

**Sírany** (2.4.13). K 26 ml se přidá 10 mg *hydrogenuhlčitanu sodného R* a odpaří se na vodní lázni do sucha. Zbytek se rozpustí v 15 ml *vody destilované R*. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (5 µg/g).

**Těžké kovy** (2.4.8). Zbytek získaný ve zkoušce Zbytek po odpaření se rozpustí v 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 25 ml. 5 ml roztoku se dále zředí *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (2 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova* (2 µg Pb/ml).

**Zbytek po odpaření.** 100,0 g se odpaří na vodní lázni a suší při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 10 mg (0,01 %).

### Stanovení obsahu

K 6,00 g se přidá 30 ml *vody R* a titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* za použití *červeně methylové RS* jako indikátoru.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 36,46 mg HCl.

---

## † Acidum hydrochloricum 35%

Kyselina chlorovodíková 35%

*Synonymum.* Acidum hydrochloricum concentratum



---

HCl	$M_r$ 36,46	CAS 7647-01-0
-----	-------------	---------------

Obsahuje 35,0 % až 39,0 % sloučeniny HCl.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá dýmající kapalina, mísitelná s vodou.  
Relativní hustota je asi 1,18.

### Zkoušky totožnosti

- A. Po zředění *vodou R* je roztok silně kyselý (2.2.4).
- B. Vyhovuje zkouškám na chloridy (2.3.1).
- C. Rozmezí pro stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** Ke 2 ml se přidá 8 ml *vody R*. Tento roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Volný chlor.** K 15 ml se přidá 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, 1 ml roztoku *jodidu draselného R* (100 g/l) a 0,5 ml *škrobu prostého jodidu RS* a nechá se 2 min stát na tmavém místě. Případně vzniklé modré zbarvení zmizí po přidání 0,2 ml *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS* (4 µg/g).

**Sírany** (2.4.13). K 6,4 ml se přidá 10 mg *hydrogenuhlčitanu sodného R* a odpaří se na vodní lázni do sucha. Zbytek se rozpustí v 15 ml *vody destilované R*. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (20 µg/g).

**Těžké kovy** (2.4.8). Zbytek získaný ve zkoušce Zbytek po odpaření se rozpustí v 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 25 ml. 5 ml tohoto roztoku se dále zředí *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (2 µg/g). Připraví se porovnávací roztok za použití základního roztoku olova (2 µg Pb/ml).

**Zbytek po odpaření.** 100,0 g se odpaří na vodní lázni a suší při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 10 mg (0,01 %).

### Stanovení obsahu

Baňka se zabroušenou zátkou obsahující 30 ml *vody R* se přesně zváží. Přidá se 1,5 ml zkoušené látky a znovu se zváží. Titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* za použití *červeně methylové RS* jako indikátoru.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 36,46 mg HCl.

### Uchovávání

V dobře uzavřených lahvích ze skla nebo jiného inertního materiálu, při teplotě nepřevyšující 30 °C. Separandum.

“

20. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Acidum nicotinicum doplňuje článek Acidum nitricum 70%, který zní:

”

## † Acidum nitricum 70%

Kyselina dusičná 70%

*Synonymum.* Acidum nitricum



HNO<sub>3</sub>

*M<sub>r</sub>* 63,01

CAS 7697-37-2

Obsahuje 68,0 % až 70,0 % sloučeniny HNO<sub>3</sub>.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo téměř bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou. Relativní hustota je asi 1,41.

### Zkoušky totožnosti

A. 1 ml se zředí *vodou R* na 100 ml. Roztok je silně kyselý (2.2.4).

B. 0,2 ml roztoku získaného ve zkoušce A vyhovuje zkoušce na dusičnany (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 2 ml se zředí vodou R na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>6</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Chloridy** (2.4.4). K 5 g se přidá 10 ml vody R a 0,3 ml dusičnanu stříbrného RS2. Roztok se nechá 2 min stát chráněn před světlem. Opalescence tohoto roztoku není intenzivnější než opalescence porovnávacího roztoku připraveného za stejných podmínek smícháním 13 ml vody R, 0,5 ml kyseliny dusičné R, 0,5 ml základního roztoku chloridů (5 μg Cl/ml) a 0,3 ml dusičnanu stříbrného RS2 (0,5 μg/g).

**Sírany** (2.4.13). K 15 g se přidá 0,2 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 (10 μg/g).

**Železo** (2.4.9). Zbytek ze zkoušky Síranový popel se rozpustí v 1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zředí se vodou R na 20 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 μg/g).

**Těžké kovy** (2.4.8). 10,0 g se na vodní lázni opatrně odpaří do sucha. Zbytek se navlhčí několika kapkami kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zředí se 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).

**Síranový popel.** Nejvýše 0,01 %. 20,00 g se opatrně odpaří do sucha. Zbytek se navlhčí několika kapkami kyseliny sírové R a žihá se v tmavočerveném žáru.

### Stanovení obsahu

K 0,750 g se přidá 50 ml vody R a titruje se hydroxidem sodným 1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml hydroxidů sodných 1 mol/l VS odpovídá 63,0 mg HNO<sub>3</sub>.

### Uchovávání

Chráněna před světlem.

Separandum.

“

21. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Acidum stearicum doplňuje článek Acidum sulfuricum, který zní

”

## † Acidum sulfuricum

Kyselina sírová



2001

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

M<sub>r</sub> 98,07

CAS 7664-93-9

Obsahuje 95,0 % až 100,5 % sloučeniny H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

## Vlastnosti

Bezbarvá olejovitá kapalina, silně hygroskopická, mísí se s vodou a lihem 96% za silného uvolňování tepla. Relativní hustota je asi 1,84.

## Zkoušky totožnosti

A. 1 ml se opatrně přidá do 100 ml *vody R*. Vzniklý roztok je silně kyselý (2.2.4).

B. Roztok získaný ve zkoušce A vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 5 ml se za stálého chlazení opatrně vleje do 30 ml *vody R* a zředí se jí na 50 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Chloridy** (2.4.4). 3,3 g se za chlazení opatrně smíchají s 30 ml *vody R*. Zneutralizuje se *amoniakem R* a zředí se *vodou R* na 50 ml. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (50 µg/g).

**Dusičnany.** 5 ml se přidá k 5 ml *vody R*. Po ochlazení se přidá 0,5 ml *indigokarmínu RS*; vznikne modré zbarvení stálé nejméně 1 min.

**Arsen** (2.4.2). 1 g se za chlazení smíchá s 20 ml *vody R* a zředí se jí na 25 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (1 µg/g).

**Železo** (2.4.9). 10,0 g se opatrně odpaří a žihá v tmavočerveném žáru. Zbytek se za mírného zahřívání rozpustí v 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 25 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 10 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (25 µg/g).

**Těžké kovy** (2.4.8). 4,0 g vyhovují limitní zkoušce F na těžké kovy (5 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg *Pb/ml*).

## Stanovení obsahu

Baňka se zabroušenou zátkou obsahující 30 ml *vody R* se přesně zváží. Přidá se 0,2 ml zkoušené látky a po ochlazení se znovu přesně zváží. Titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/ VS* odpovídá 49,04 mg  $H_2SO_4$ .

## Uchovávání

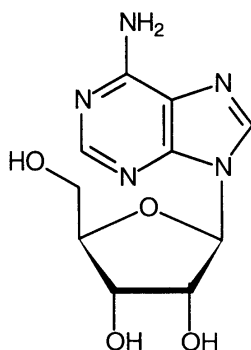
V dobře uzavřených obalech.  
Separandum.

22. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Adeninum doplňuje článek Adenosinum, který zní:

”

## † Adenosinum

Adenosin

 $C_{10}H_{13}N_5O_4$  $M_r 267,24$ 

CAS 58-61-7

Je to 9- $\beta$ -D-ribofuranosyl-9H-purin-6-ylamin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{10}H_{13}N_5O_4$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v horké vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách.

Taje při asi 234 °C.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *adenosinu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 5,0 g se suspenduje ve 100 ml *vody destilované R* a zahřeje se k varu. Ochladí se, zfiltruje za pomoci vakua a zředí se *vodou destilovanou R* na 100 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Kyselce nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *červeně bromkresolové RS* a 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*; roztok je žlutý. Přidá se 0,4 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je fialově modrý.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-45^\circ$  až  $-49^\circ$ , počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,25 g v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředěním stejnou kyselinou na 50,0 ml. Stanovení se provede do 10 min.

**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 za mírného zahřátí v *kyselině octové zředěné RS* a zředí se jí na 5 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *vodou R* na 100 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10 mg *adenosinu CRL* a 10 mg *adeninu CRL* se rozpustí, je-li třeba, mírným zahřátím, v *kyselině octové zředěné RS* a zředí se stejnou kyselinou na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *amoniaku 26% R* a *1-propanolu R* (10 + 30 + 60) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Deska se postříká roztokem *manganistanu draselného R* (5 g/l) v *hydroxidu sodném 1 mol/l RS*. Potom se deska usuší v proudu teplého vzduchu a pozoruje se na denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**Chloridy (2.4.4).** 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100  $\mu$ g/g).

**Sírany (2.4.13).** 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (200  $\mu$ g/g).

**Amonium (2.4.1).** 0,5 g vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (10  $\mu$ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 5 ml základního roztoku *amonie* (1  $\mu$ g  $\text{NH}_4$ /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

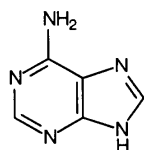
0,200 g se rozpustí, v případě potřeby za mírného zahřátí, ve směsi 20 ml *acetanhydridu R* a 30 ml *kyseliny octové bezvodé R*. Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 26,72 mg  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$ .

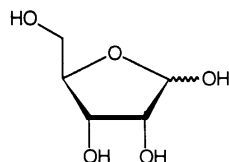
## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.  
Separandum.

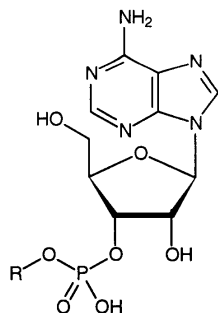
## Nečistoty



A. 1*H*-purin-6-ylamin (adenin),



B. D-ribosa,



C. R = H: adenosin-3'-dihydrogen-fosfat<sup>1)</sup>,

D. R = PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>: adenosin-3'-trihydrogen-difosfat<sup>2)</sup>,

E. R = PO<sub>2</sub>H-O-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>: adenosin-3'-tetrahydrogen-trifosfat<sup>3)</sup>.

“

23. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Adeps lanae a Adeps lanae hydrogenatus znějí:

”

## Adeps lanae

Tuk z ovčí vlny

*Synonymum.* Cera lanae, vosk z ovčí vlny



CAS 8006-54-0

Je to čištěná bezvodá voskovitá látka získaná z ovčí vlny (*Ovis aries*). Může obsahovat nejvýše 200 µg/g butylhydroxytoluenu.

### Vlastnosti

Slabě žlutá mastná hmota s charakteristickým pachem, která se taví na čirou nebo téměř čirou žlutou tekutinu. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v etheru a těžce rozpustný ve vrocím ethanolu. Roztok v etheru petrolejovém opalizuje.

### Zkoušky totožnosti

A. 0,5 g ve zkumavce se rozpustí v 5 ml *chloroformu R* a přidá se 1 ml *acetanhydridu R* a 0,1 ml *kyseliny sírové R*; vzniká zelené zbarvení.

<sup>1)</sup> adenosin-3'-dihydrogen-fosfát

<sup>2)</sup> adenosin-3'-trihydrogen-difosfát

<sup>3)</sup> adenosin-3'-tetrahydrogen-trifosfát

**B.** 50 mg se rozpustí v 5 ml *chloroformu R*, přidá se 5 ml *kyseliny sírové R* a protřepe se; vzniká červené zbarvení a ve spodní vrstvě se objeví intenzivní zelená fluorescence.

### Zkoušky na čistotu

**Kysele nebo zásaditě reagující látky rozpustné ve vodě.** 5,0 g se roztaví na vodní lázni a silně se 2 min protřepává se 75 ml *vody R* předem zahřáté na 90 °C až 95 °C. Po ochlazení se zfiltruje přes papírový filtr předem navlhčený *vodou R*. K 60 ml filtrátu, který nemusí být čirý, se přidá 0,25 ml *modři bromthymolové RS1*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS* nebo 0,15 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS*.

**Teplota skápnutí (2.2.17).** 38 °C až 44 °C. Zkoušená látka se roztaví na vodní lázni, ochladí se na teplotu asi 50 °C, naleje se do kovové nádoby přístroje na stanovení teploty skápnutí a nechá se stát 24 h při teplotě 15 °C až 20 °C.

**Emulgační schopnost.** K 10 g v třecí misce se přidává *voda R* z byrety po 0,2 ml až 0,5 ml. Po každém přidání *vody R* se obsah třecí misky intenzivně promíchá, aby došlo k úplnému pojmání *vody R*. Když jsou viditelné kapky vody, kterou již zkoušená látka nepojímá, je zkouška ukončena. Zkoušená látka přijme nejméně 20 ml *vody R*.

**Číslo kyselosti (2.5.1).** Nejvýše 1,0; 5,0 g se rozpustí v 25 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Číslo peroxidové (2.5.5).** Nejvýše 20.

**Číslo zymědelnění (2.5.6).** 90 až 105; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky. Zahřívá se 4 h pod zpětným chladičem.

**Oxidovatelné látky rozpustné ve vodě.** K 10 ml filtrátu ze zkoušky Kyseliny nebo zásaditě reagující látky rozpustné ve vodě se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 0,1 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l VS*; po 10 min se roztok zcela neodbarví.

**Butylhydroxytoluen.** Nejvýše 200 µg/g. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *methyldekanoatu R* jako vnitřního standardu.

*Roztok vnitřního standardu.* 0,2 g *methyldekanoatu R* se rozpustí v *sirouhlíku R* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *sirouhlíkem R* na 10,0 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.* 0,2 g *butylhydroxytoluenu R* se rozpustí v *sirouhlíku R* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *sirouhlíkem R* na 10,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se *sirouhlíkem 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,
- plamenioionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 150 °C, teplota vstřikovacího prostoru na 180 °C a teplota detektoru na 300 °C. Nastříkují se zvolené objemy zkoušených roztoků (a) a (b) a porovnávacího roztoku.

**Parafiny.** *Uzávěr sloupce a vatová zátká se zbaví tuku.* Připraví se sloupec oxidu hlinitého bezvodého 0,23 m dlouhý o průměru 20 mm naplněním řídkou směsí *oxidu hlinitého bezvodého R* a *etheru petrolejového R1* do skleněné trubice opatřené uzávěrem a obsahující *ether petrolejový R1* (*oxid hlinitý bezvodý R* se před použitím žihá 3 h v peci při 600 °C). Směs se nechá usadit tak, aby rozpouštědlo nad sloupcem tvořilo vrstvu asi 40 mm. 3,0 g zkoušené látky se rozpustí v 50 ml teplého *etheru petrolejového R1*, ochladí se a roztok se nechá prokapávat přes sloupec rychlostí 3 ml/min. Potom se sloupec promyje 250 ml *etheru petrolejového R1*. Eluáty se spojí, zahustí se destilací na malý objem, odpaří se na vodní lázni a zbytek se suší vždy 10 min při 105 °C tak dlouho, až dvě po sobě následující vážení se neliší o více než 1 mg. Zbytek váží nejvýše 30 mg (1,0 %).

**Zbytky pesticidů.** Nejvýše 0,05 µg/g pro každý jednotlivý organochlorový pesticid, 0,5 µg/g pro každý jiný jednotlivý pesticid a nejvýše 1 µg/g pro součet obsahů všech pesticidů.

Použitě laboratorní sklo musí být umyto bez použití fosfátových detergentů následujícím způsobem: laboratorní sklo se na 24 h ponoří do roztoku s detergentem (5 % v deionizované vodě). Poté se detergent vymyje dostatečným množstvím acetonu a hexanu pro analýzu pesticidů. Je důležité, aby laboratorní sklo používané pro analýzu pesticidů nebylo používáno pro jiné analytické účely. Použitě laboratorní sklo nesmí přijít do styku s chlorovanými rozpouštědly, s plastovými a pryžovými materiály, obzvláště materiály s ftalátovými změkčovadly, kyslíkatými sloučeninami a dusíkatými rozpouštědly, jako je acetonitril. Používají se hexan, toluen a aceton pro analýzu pesticidů a zkoumadla ethylacetat, cyklohexan a voda stupně jakosti pro kapalinovou chromatografii.

Zkouška spočívá v oddělení reziduí pesticidů pomocí vylučovací chromatografie, následnou extrakcí na tuhé fázi a identifikací plynovou chromatografií za použití detektoru elektronového záhytu nebo tepelně ionizačního detektoru.

**ODDĚLENÍ ZBYTKŮ PESTICIDŮ.** Ke kalibraci kolony pro gelovou permeační chromatografii (GPC) se jako detektor použije UV/VIS spektrofotometr při 254 nm.

Kalibrace při gelové permeační chromatografii je nesmírně důležitá, aby bylo zajištěno, že tlak, průtoková rychlost rozpouštědla, poměr rozpouštědel, teplota a podmínky na koloně zůstanou konstantní. Kolona pro gelovou permeační chromatografii musí být kalibrována v pravidelných intervalech za použití standardních směsí připravených následujícím způsobem: 50,00 g oleje kukuřičného R, 2,00 g bis(2-ethylhexyl)ftalatu R, 0,20 g methoxychloru R, 50,0 mg peryle-nu R, 50,0 mg naftalenu R a 80,0 mg síry R se převede do 1000ml odměrné baňky a zředí se směsí stejných objemových dílů cyklohexanu R a ethylacetatu R na 1000,0 ml.

Ke kalibraci kolony se použije mobilní fáze směsí stejných objemových dílů cyklohexanu R a ethylacetatu R o průtokové rychlosti 5 ml/min. Nastříkne se 5 ml standardní směsi a zaznamená se výsledný chromatogram. Retenční časy nesmí vykazovat více než  $\pm 5$  % rozdílů mezi jednotlivými kalibracemi. Jestliže je rozdíl retenčních časů vyšší než  $\pm 5$  %, musí být provedena korekce. Odlišné retenční časy mohou být způsobeny:

- špatnou kontrolou laboratorní teploty,
- obsahem vzduchu v pumpě. To může být ověřeno měřením průtokové rychlosti: odměří se 25 ml eluátu z kolony do odměrné baňky a odečte se čas ( $300 \pm 5$ ) s,
- netěsností systému.

Změny tlaku, průtokové rychlosti mobilní fáze nebo teplotních podmínek kolony, stejně jako její kontaminace mohou ovlivnit retenční časy pesticidů a musí být monitorovány. Jestliže je průtoková rychlost nebo tlak na koloně mimo požadovaný rozsah, musí být předkolona nebo kolona vyměněny.

**Zkoušený roztok.** 1 g přesně zvážené zkoušené látky se rozpustí v odměrné baňce ve směsi objemových dílů ethylacetatu R a cyklohexanu R (1 + 7), přidá se 1 ml vnitřního standardu 2  $\mu\text{g/ml}$  buď isodrinu R nebo ditalimfosu R a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 20 ml.

*Vnitřní standardy roztoků se používají k určení, zda výtěžnosti pesticidů po přečištění pomocí GPC, odpaření a extrakci na pevné fázi jsou na přijatelné úrovni. Hladiny výtěžností roztoků vnitřních standardů v roztocích zkoušené látky jsou určovány porovnáním ploch piků extraktů zkoušené látky a ploch piků roztoků vnitřních standardů.*

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- předkolony o délce 0,075 m a vnitřního průměru 21,2 mm a gelové permeační kolony o délce 0,3 m a vnitřního průměru 21,2 mm, obě naplněné styrendivinybenzen-kopolymerem R (5  $\mu\text{m}$ ),
- mobilní fáze tvořené směsí objemových dílů ethylacetatu R a cyklohexanu R (1 + 7). Průtoková rychlost je 5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru při 254 nm.

Nastříkne se 5 ml zkoušeného roztoku. Pro zkoušku se nepoužije prvních 95 ml (19 min) eluátu obsahujícího zkoušenou látku. Dalších 155 ml eluátu (31 min) obsahujících jakékoliv zbytky pesticidů se zachytí do odpařovací nádoby.

Nádoba se 155 ml zachyceného eluátu se umístí do odpařovacího zařízení s vodní lázní o teplotě 45 °C a tlaku dusíku 55 kPa. Eluát se odpaří na 0,5 ml.

K přípravě kolonek pro extrakci na pevné fázi se použije křemičitan hořečnatý pro reziduální analýzu pesticidů R žíhaný 4 h v muflové peci při 700 °C, aby se odstranila vlhkost a polychlorované bifenyly. Po dvou hodinách se křemičitan hořečnatý přesune přímo do sušárny, kde se ponechá 30 min při 100 °C až 105 °C, poté se křemičitan hořečnatý umístí do uzavřené skleněné nádoby, kde se ponechá 48 h k ustálení rovnováhy. Takto připravený materiál může být použit po dobu dvou týdnů. Po uplynutí této doby musí být křemičitan hořečnatý reaktivován žíháním 2 h v muflové peci při 600 °C a takto reaktivovaný se po ochlazení znovu uchová v uzavřené skleněné nádobě. Křemičitan hořečnatý se deaktivuje přidáním 1 % vody R. Po přidání vody těsně před použitím se křemičitan hořečnatý protřepává nepřetržitě 15 min. Takto připravený materiál může být používán po dobu jednoho týdne. Používá se pouze deaktivovaný křemičitan hořečnatý.

Do 6 ml kolonky pro extrakci na pevné fázi se naváže 1 g deaktivovaného křemičitanu hořečnatého.

Na tomto stupni gelové frakcionace obsahuje eluát stále ještě okolo 10 % zkoušené látky, takže je nezbytné další čištění. Oddělené izolační postupy jsou používány pro:

- a) organochlorové a syntetické pyrethroidní pesticidy,
- b) organofosfátové pesticidy.

Předem připravená kolonka pro extrakci na pevné fázi obsahující 1 g deaktivovaného *křemičitanu hořečnatého pro reziduální analýzu pesticidů R* se umístí do vakuového zařízení na promývání kolonek.

Kolonka se upraví přidáním 10 ml *toluenu R*, který se nechá volně protéct. Na takto připravenou kolonku se nanese 0,5 ml tekuté frakce z odpařovací nádoby. Pesticidové frakce se eluují z kolonek po přidání 20 ml dvou rozdílných, níže uvedených systémů rozpouštědel:

- a) pro stanovení organochlorových a syntetických pyrethroidních pesticidů se použije *toluen R*. Velmi malé množství zkoušené látky je společně eluováno,
- b) pro stanovení organofosfátových pesticidů se použije směs objemových dílů *acetonu R* a *toluenu R* (2 + 98). Tato směs rozpouštědel se využívá k eluci všech pesticidů, včetně polárnějších organofosfátových pesticidů. Některá ze zkoušených látek však je společně eluována tímto systémem rozpouštědel, což může způsobit interferenci s detektorem elektronového záchytu.

Eluát z extrakční kolonky se zachytí ve 25ml skleněné lahvičce a kvantitativně se převede do odpařovací nádoby. Lahvička se promyje třikrát s 10 ml *hexanu R*.

Odpařovací nádoba se umístí do odpařovacího zařízení s vodní lázní o teplotě 45 °C a tlakem dusíku 55 kPa a frakce z extrakce na pevné fázi se odpaří na 0,5 ml.

Zbytky se stanoví plynovou chromatografií za použití detektoru elektronového záchytu a tepelně ionizačního detektoru postupem uvedeným dále.

**Výtěžnost.** Vypočte se korekční faktor ( $R_{cf}$ ) výtěžnosti vnitřního standardu (*ditalimfosu R* nebo *isodrinu R*) přidaného ke zkoušenému roztoku dle vzorce:

$$\frac{\text{plocha píku vnitřního standardu extrahovaného ze zkoušeného roztoku}}{\text{plocha píku vnitřního standardu v roztoku 1 } \mu\text{g/ml}} \cdot 100 .$$

Z 20 ml zkoušeného roztoku obsahujícího 1 ml vnitřního standardu (2  $\mu\text{g/ml}$ ) se odebere 5 ml a odpaří se na 0,5 ml (odpovídá 1  $\mu\text{g/ml}$  vnitřního standardu).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže výtěžnosti vnitřních standardů se pohybují v rozmezí 70 % až 110 %.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se porovnávací roztoky pesticidů za použití standardů pesticidů o koncentraci 0,5  $\mu\text{g/ml}$  (viz složení porovnávacích roztoků A až F v tabulce 1). Komerčně dostupné pesticidy se mohou koupit. Koncentrace jednotlivých standardů odpovídá 10  $\mu\text{g/ml}$ .

Současně se připraví roztoky pesticidů odpovídající detekčním limitům metody (viz doporučené složení v tabulce 1). Tyto porovnávací roztoky jsou používány k optimalizaci detektoru elektronového záchytu a tepelně ionizačního detektoru, aby bylo dosaženo detekčních limitů metod (viz porovnávací roztoky G a H).

K přípravě porovnávacích roztoků o různých koncentracích se používají kalibrované pipety a odměrné baňky. K přípravě roztoků vnitřního standardu I a J se použijí analytické váhy s přesností na čtyři desetinná místa, pipety a odměrné baňky.

**TOTOŽNOST A STANOVENÍ ZBYTKŮ PESTICIDŮ.** Totožnost jakýchkoliv zbytků pesticidů se určí srovnáním s chromatogramy získanými s porovnávacími roztoky A až F.

Totožnost pesticidů může být potvrzena jejich přídávkem ke vzorku nebo elektronickým překryvem chromatogramů umožněným počítačovým programem. Určení totožnosti pesticidů při stopové zbytkové analýze je značně náročné.

Detektory, především detektor elektronového záchytu, mají tendenci interferovat jak se zkoušenou látkou, tak s rozpouštědly, zkoumadly i aparaturou používanou k extrakci. Tyto píky mohou být snadno mylně interpretovány nebo přijaty jako falešně pozitivní. Potvrzení pesticidů může být dosaženo analýzou vzorků a standardů na různých kapilárních kolonách (viz chromatografické systémy A nebo B popsané dále). Píky mohou být identifikovány podle tabulky 2.

Pro totožnost neznámých píků jsou užitečné znalosti rozdílných odezev pesticidů při použití dvou detektorů.

Jakmile se pesticidy identifikují, vypočte se obsah každého z nich podle vzorce:

$$C_p = \frac{P_p \cdot D \cdot C_e \cdot 100}{P_e \cdot R_{cf}}$$

v němž značí:

$C_p$  - koncentraci identifikovaného pesticidu ( $\mu\text{g/g}$ ),

$P_p$  - plochu píku jednotlivého pesticidu ve zkoušeném vzorku,

$C_e$  - koncentraci jednotlivého pesticidu ve vnějším standardu ( $\mu\text{g/ml}$ ),

$P_e$  - plochu píku jednotlivého pesticidu ve vnějším standardu,

$D$  - zředovací faktor,

$R_{cf}$  - korekční faktor výtěžnosti.

Zředovací faktor ( $D$ ) může být definován takto:

$$\frac{\text{objem vzorku získaný po druhém stupni odpařování}}{\text{navážka vzorku}} \cdot \frac{\text{objem nástříku GPC}}{\text{objem odměrné baňky se vzorkem}}$$

**Tab. 1** Složení porovnávacích roztoků

Porovnávací roztok A (0,5 $\mu\text{g/ml}$ nebo 0,5 $\text{mg/l}$ ) (organochlorové a syntetické pyrethroidní pesticidy)	Porovnávací roztok B (0,5 $\mu\text{g/ml}$ nebo 0,5 $\text{mg/l}$ ) (organochlorové a syntetické pyrethroidní pesticidy)
<i>cyhalothrin R</i> <i>cypermethrin R</i> <i>o,p'-DDE R</i> <i>p,p'-DDE R</i> <i>p,p'-DDT R</i> <i>deltamethrin R</i> <i>endrin R</i> <i>heptachlor R</i> <i>heptachloreoxid R</i> <i>hexachlorbenzen R</i> <i>lindan R</i> <i>teknazen R</i>	<i>aldrin R</i> <i>o,p'-DDT R</i> <i>o,p'-DDD R</i> <i>p,p'-DDD R</i> <i>dieldrin R</i> <i><math>\alpha</math>-endosulfan R</i> <i><math>\beta</math>-endosulfan R</i> <i>fenvalerat R</i> <i><math>\alpha</math>-hexachlorcyklohexan R</i> <i><math>\beta</math>-hexachlorcyklohexan R</i> <i><math>\delta</math>-hexachlorcyklohexan R</i> <i>methoxychlor R</i> <i>permetrin R</i>
Porovnávací roztok C (0,5 $\mu\text{g/ml}$ nebo 0,5 $\text{mg/l}$ ) (organofosfátové pesticidy)	Porovnávací roztok D (0,5 $\mu\text{g/ml}$ nebo 0,5 $\text{mg/l}$ ) (organofosfátové pesticidy)
<i>bromofos-ethyl R</i> <i>karbofenthion R</i> <i>chlorfenvinfos R</i> <i>diazinon R</i> <i>dichlorfenthion R</i> <i>ethion R</i> <i>fenchlorfos R</i> <i>malathion R</i> <i>propetamfos R</i>	<i>bromofos R</i> <i>chlorpyrifos R</i> <i>chlorpyrifos-methyl R</i> <i>kumafos R</i> <i>fosalon R</i> <i>pirimifos-ethyl R</i> <i>tetrachlorvinfos R</i>
Porovnávací roztok E (2 $\mu\text{g/ml}$ nebo 2,0 $\text{mg/l}$ ) (organochlorové pesticidy)	Porovnávací roztok F (2 $\mu\text{g/ml}$ nebo 2,0 $\text{mg/l}$ ) (organochlorové pesticidy)
<i>chlordan R</i>	<i>toxafen R</i>

Tabulka pokračuje na následující straně

## Dokončení tabulky 1

Porovnávací roztok G (kalibrační směs pro detektor elektronového záchytu)	Porovnávací roztok H (kalibrační směs pro tepelně ionizační detektor)
aldrin R (0,01 mg/l) cypermethrin R (0,1 mg/l) o,p'-DDD R (0,01 mg/l) deltamethrin R (0,1 mg/l) endrin R (0,01 mg/l) β-hexachlorcyklohexan R (0,01 mg/l)	chlorfenvinfos R (0,05 mg/l) diazinon R (0,05 mg/l) ethion R (0,05 mg/l) fenchlorfos R (0,05 mg/l) propetamfos R (0,05 mg/l)
Porovnávací roztok I (vnitřní standard organofosfátových pesticidů)	Porovnávací roztok J (vnitřní standard organochlorových pesticidů)
ditalimfos R (2 μg/ml nebo 2,0 mg/l) ditalimfos R (1 μg/ml nebo 1,0 mg/l)	isodrin R (2 μg/ml nebo 2,0 mg/l) isodrin R (1 μg/ml nebo 1,0 mg/l)

Tab. 2 Eluční pořadí pesticidů v chromatografických systémech A a B

Chromatografický systém A	Chromatografický systém B
teknazen	teknazen
α-hexachlorcyklohexan	hexachlorbenzen
hexachlorbenzen	α-hexachlorcyklohexan
β-hexachlorcyklohexan	diazinon
lindan	lindan
propetamfos	propetamfos
δ-hexachlorcyklohexan	heptachlor
diazinon	dichlofenthion
dichlofenthion	aldrin
chlorpyrifos-methyl	chlorpyrifos-methyl
heptachlor	fenchlorfos
fenchlorfos	β-hexachlorcyklohexan
aldrin	δ-hexachlorcyklohexan
malathion	pirimifos-ethyl
chlorpyrifos-ethyl	chlorpyrifos-ethyl
bromofos	bromofos
pirimifos-ethyl	malathion
heptachloreoxid	heptachloreoxid
chlorfenvinfos (E)	o,p'-DDE
chlorfenvinfos (Z)	chlorfenvinfos (E)
bromofos-ethyl	α-endosulfan
o,p'-DDE	chlorfenvinfos (Z)
α-endosulfan	bromofos-ethyl
tetrachlorvinfos	p,p'-DDE
dieldrin	dieldrin
p,p'-DDE	tetrachlorvinfos
o,p'-DDT	o,p'-DDT
endrin	endrin
β-endosulfan	o,p'-DDD
o,p'-d <sub>20</sub> <sup>20</sup>	p,p'-DDD
p,p'-d <sub>20</sub> <sup>20</sup>	β-endosulfan

Tabulka pokračuje na následující straně

## Dokončení tabulky 1

ethion karbofenothion <i>p,p'</i> -DDT methoxychlor fosalon cyhalothrin (2 izomery) <i>cis</i> -permethrin <i>trans</i> -permethrin kumafos cypermethrin (4 izomery) fenvalerat (2 izomery) deltamethrin	ethion <i>p,p'</i> -DDT karbofenothion methoxychlor cyhalothrin <i>cis</i> -permethrin fosalon <i>trans</i> -permethrin cypermethrin (4 izomery) kumafos fenvalerat (2 izomery) deltamethrin
---	---

Chromatografický postup může být proveden pomocí chromatografického systému A:

- deaktivované křemenné předkolony délky 4,5 m a vnitřního průměru 0,53 mm a křemenné kapilární kolony délky 60 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou *poly(difenyl)(dimetyl)siloxanem R* (tloušťka filmu 0,25 μm),
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu o lineární rychlosti 25 cm/s a tlaku 180 kPa,

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 1	75	25	izotermicky
	1 - 5	75 → 175		lineární gradient
	5 - 30	175 → 275	4	lineární gradient
	30 - 40	275 → 285	1	lineární gradient
nástríkový prostor detektor	40 - 55	285		izotermicky
		300		
		350		

- detektoru elektronového záchytu nebo tepelně ionizačního detektoru.

Nastříkuje se odděleně po 2 μl každého roztoku.

Chromatografie v chromatografickém systému B potvrzující přítomnost pesticidů je obvykle prováděna za použití:

- deaktivované křemenné předkolony délky 4,5 m a vnitřního průměru 0,53 mm a křemenné kapilární kolony délky 60 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou vrstvou *poly(kyanpropyl)(7)(fenyl)((7)methyl)(86)siloxanu R* (tloušťka filmu 0,25 μm),
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu o lineární rychlosti 25 cm/s a tlaku 180 kPa,

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 1	75	25	izotermicky
	1 - 5	75 → 175		lineární gradient
	5 - 30	175 → 275	4	lineární gradient
	30 - 40	275 → 285	1	lineární gradient
nástríkový prostor detektor	40 - 55	285		izotermicky
		300		
		350		

- detektoru elektronového záchytu nebo tepelně ionizačního detektoru.



Nastříkne se odděleně po 2 µl každého roztoku.

**Chloridy.** Nejvýše 150 µg/g. 1,0 g se 5 min vaří pod zpětným chladičem s 20 ml *lihu R 90% (V/V)* v baňce s kulatým dnem. Po ochlazení se přidá 40 ml *vody R*, 0,5 ml *kyseliny dusičné R* a zfiltruje se. K filtrátu se přidá 0,15 ml roztoku *dusičnanu stříbrného R* (10 g/l) v *lihu R 90% (V/V)* a roztok se ponechá 5 min chráněn před světlem. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací roztok připravený současně přidáním 0,15 ml roztoku *dusičnanu stříbrného R* (10 g/l) v *lihu R 90% (V/V)* ke směsi 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l RS*, 20 ml *lihu R 90% (V/V)*, 40 ml *vody R* a 0,5 ml *kyseliny dusičné R*.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,00 g se suší 1 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,15 %; 5,00 g zkoušené látky se spálí a se zbytkem se provede zkouška na síranový popel.

### Uchovávání

Při teplotě nepřevyšující 25 °C.

### Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, koncentrace přidaného butylhydroxytoluenu.

---

## Adeps lanae hydrogenatus

Hydrogenovaný tuk z ovčí vlny

*Synonyma.* Cera lanae hydrogenata, vosk z ovčí vlny ztužený



CAS 8031-44-5

Je to směs vyšších alifatických alkoholů a sterolů získaných hydrogenací z ovčí vlny (*Adeps lanae*) za vysokého tlaku a teploty. Estery a kyseliny tuku z ovčí vlny jsou za těchto podmínek redukovány na jim odpovídající alkoholy. Může obsahovat nejvýše 200 µg/g butylhydroxytoluenu.

### Vlastnosti

Bílá nebo světle žlutá mastná hmota. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný ve vroucím lihu 96% a v etheru petrolejovém.

### Zkoušky totožnosti

*Základní zkouška:* B.

*Alternativní sestava zkoušek:* A a C, viz *Obecné zásady (1.2)*.

- Teplota tání, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- 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).
- 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 5,0 g zkoušené látky.

**Číslo hydroxylové (2.5.3, Metoda A).** 140 až 180.

**Číslo zmýdelnění (2.5.6).** Nejvýše 8,0. Zahřívá se 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 kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou *polydimethylsiloxanem R* nebo jinou nepolární fází (tloušťka filmu 0,25 µm),
  - *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
	5 - 45	100 → 300	5	lineární gradient
	45 - 60	300		izotermicky
nástřikový prostor		325		
detektor		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 zvětšené píky s retenčními časy odpovídajícími 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 *2,4-dimethyl-6-terc.butylfenolu R* jako vnitřního standardu.

*Roztok vnitřního standardu.* 0,2500 g *2,4-dimethyl-6-terc.butylfenolu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 250,0 ml.

*Základní roztok.* 0,2500 g *butylhydroxytoluenu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 250,0 ml.

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok do 3 h po jeho přípravě. Asi 100,0 g zkoušené látky se roztaví v mikrovlnné troubě. 10,0 g (*m*) takto připraveného vzorku se převede do 100ml odměrné baňky, k roztavené látce se přidá dostatečné množství (několik mililitrů) *hexanu R* a za stálého míchání se převede do roztoku, přidají se 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se *hexanem R* na 100,0 ml. Odměrná baňka se uloží na 1 h do inkubátoru při 10 °C.

Kolonka pro extrakci na pevné fázi se umístí do vakuového zařízení a ke spodnímu výstupu z kolony se umístí 30ml skleněná lahvička. Kolonka s 5 g pevné fáze se stabilizuje promýváním 10 ml směsí stejných objemových dílů *hexanu R* a *toluenu R*. Před zahájením sušení se nechá kolonkou projít 2,5 ml připraveného vzorku a dále se promývá 20 ml směsí stejných objemových dílů *hexanu R* a *toluenu R*. Získaný eluát se kvantitativně převede do nádoby, ve které se zahustí na 1 ml pomocí automatického odpařovacího zařízení. Takto zakoncentrovaný eluát se použije jako zkoušený roztok.

*Porovnávací roztok.* Použije se roztok do 3 h po jeho přípravě. Asi 100,0 g *hydrogenovaného tuku z ovčí vlny prostého BHT CRL* se roztaví v mikrovlnné troubě. 10,0 g (*m*) takto připraveného vzorku se převede do 100 ml odměrné baňky, k roztavené látce se přidá dostatečné množství (několik mililitrů) *hexanu R* a za stálého míchání se převede do roztoku, přidají se 2,0 ml roztoku vnitřního standardu, 2,0 ml základního roztoku a zředí se *hexanem R* na 100,0 ml. 2,5 ml tohoto roztoku se nanese na kolonku pro extrakci na pevné fázi, předem stabilizovanou 10 ml směsí stejných

objemových dílů *hexanu R* a *toluenu R*. 20 ml směsi stejných objemových dílů *hexanu R* a *toluenu R* se nechá protékat, aby byl vymyt butylhydroxytoluen a vnitřní standard. Získaný eluát se kvantitativně převede do nádoby, ve které se zahustí na 1 ml pomocí automatického odpařovacího zařízení. Takto zakonzentrovaný eluát se použije jako porovnávací roztok.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 12 m a vnitřního průměru 0,22 mm s vnitřní stěnou pokrytou *polydimethylsiloxanem R* (tloušťka filmu 0,25 μm),
  - *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 40 ml/min,
  - plamenoionizačního detektoru,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 2	100	25	izotermicky
	2 - 5	100 → 180		lineární gradient
	5 - 7	180	25	izotermicky
	7 - 10	180 → 250		lineární gradient
	10 - 30	250		izotermicky
nástříkový prostor		210		
	0 - 1	210 - 350		
detektor	1 - 4	350 → 0		
		300		

Nastříkne se odděleně po 1 μl zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku. Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává asi 30 min. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy vnitřního standardu asi 3,5 min a butylhydroxytoluenu asi 4,6 min.

Koncentrace butylhydroxytoluenu ve zkoušené látce v μg/g se vypočte ze vztahu:

$$\frac{200 \cdot A_{\text{BHT}}}{A} \cdot \frac{K}{K_{\text{BHT}}} \cdot \frac{10}{m},$$

v němž značí:

- $A_{\text{BHT}}$  - plochu píku butylhydroxytoluenu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- $A$  - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- $K_{\text{BHT}}$  - plochu píku butylhydroxytoluenu na chromatogramu porovnávacího roztoku,
- $K$  - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku,
- $m$  - navážku zkoušené látky v gramech použitou k přípravě zkoušeného 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.

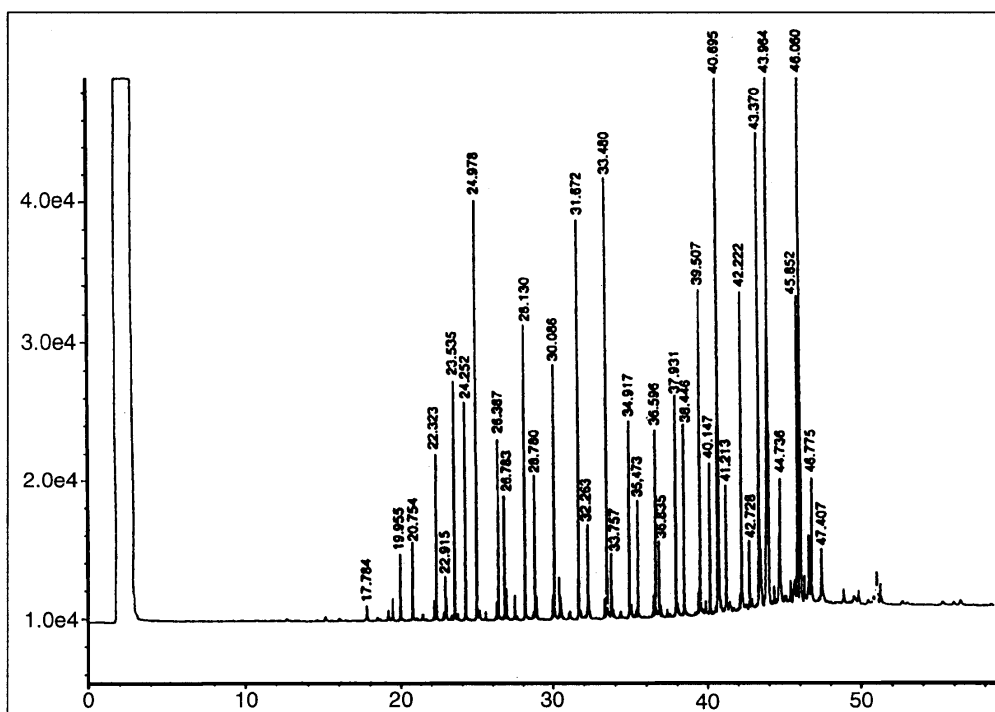
**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 5,00 g zkoušené látky.

## Uchovávání

Ve zcela naplněných obalech, chráněn před světlem.

## Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, koncentrace přidaného butylhydroxytoluenu.



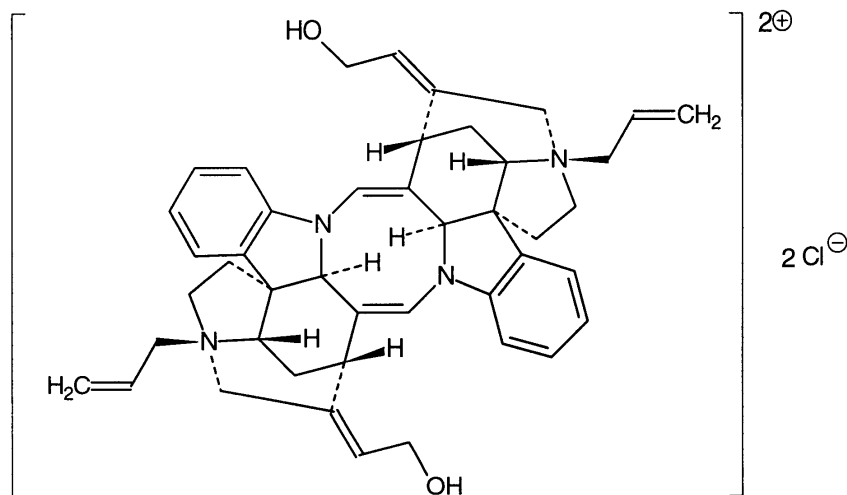
Obr. 1 Chromatogram pro zkoušku Mastné alkoholy a steroly (porovnávací roztok (a)).

24. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Alcuronii chloridum a Alfacalcidolum znějí:

”

## † Alcuronii chloridum

Alkuroniumchlorid



$C_{44}H_{50}Cl_2N_4O_2$

$M_r$  737,81

CAS 15180-03-7

Je to (23*E*,26*E*)-(1*R*,3*aS*,10*S*,11*aS*,12*R*,14*aS*,19*aS*,20*bS*,21*S*,22*aS*)-1,12-diallyl-23,26-bis(2-hydroxyethyliden)-2,3,11,11*a*,13,14,22,22*a*-oktahydro-10*H*,21*H*-1,21:10,12-diethano-19*aH*,20*bH*-[1,5]diazocino[1,2,3-*lm*:5,6,7-*l'm'*]dipyrrolo[2,3-*d*:2',3'-*d'*]dikarbazoliumdichlorid<sup>1)</sup> (4,4'-didimethyl-4,4'-diallyltoxiferinium-I-dichlorid)<sup>2)</sup>. Počítáno na bezvodou a 2-propanolu<sup>3)</sup> prostou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{44}H_{50}Cl_2N_4O_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě šedobílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96 %, prakticky nerozpustný v cyklohexanu.

Zkoušky totožnosti, zkoušky na čistotu a stanovení obsahu se provádějí co nejrychleji a za ochrany před světlem.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, C.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

<sup>1)</sup> (23*E*,26*E*)-1*R*,3*aS*,10*S*,11*aS*,12*R*,14*aS*,19*aS*,20*bS*,21*S*,22*aS*)-1,12-diallyl-23,26-bis(2-hydroxyethyliden)-2,3,11,11*a*,13,14,22,22*a*-oktahydro-10*H*-1,21:10,12-diethano-19*aH*,20*bH*-[1,5]diazocino[1,2,3-*lm*:5,6,7-*l'm'*]dipyrrolo[2,3-*d*:2',3'-*d'*]dikarbazolium-dichlorid

<sup>2)</sup> 4,4'-diallyl-4,4'-didimethyltoxiferinium-I-dichlorid

<sup>3)</sup> propan-2-olu

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *alkuroniumchloridu CRL*.

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

*Zkoušený roztok.* 10 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 10 mg *alkuroniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směs objemových dílů roztoku *chloridu sodného R* (58,4 g/l), *amoniaku zředěného RS2* a *methanolu R* (15 + 35 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se suší na vzduchu 10 min a potom se postříká *hexanitratoceričitanem amonným 0,1 mol/l RS*. 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.** 0,250 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 25,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $Z_6$ ,  $H\check{Z}_6$  nebo  $H_6$  (2.2.2, *Metoda I*).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *červeně methylové RS* a 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*; roztok se zbarví červeně. Přidá se 0,4 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok se zbarví žlutě.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-430^\circ$  až  $-451^\circ$ ; počítáno na bezvodou a 2-propanolu prostou látku. Měří se roztok S.

**2-Propanol.** Nejvýše 1,0 % (2.4.24, *Systém A*).

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Směs rozpouštědel.* Smíchá se 100 ml *methanolu R*, 200 ml *acetonitrilu R* a 200 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (6,82 g/l). 1,09 g *laurylsulfonanu sodného pro chromatografii R* se rozpustí v této směsi rozpouštědel a upraví se pH na hodnotu 8,0 roztokem *hydroxidu sodného R* (100 g/l).

*Zkoušený roztok.* 0,20 g se rozpustí ve směsi rozpouštědel a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí rozpouštědel na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 4,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí rozpouštědel na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí rozpouštědel na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* K 5,0 ml zkoušeného roztoku se přidá 5,0 mg *N-allylstrychninibromidu CRL*, rozpustí se ve směsi rozpouštědel a zředí se jí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze připravené takto: 200 ml *methanolu R*, 400 ml *acetonitrilu R* a 400 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (6,82 g/l) se smíchá. V této směsi se rozpustí 2,18 g *laurylsulfonanu sodného pro chromatografii R* a upraví se pH na hodnotu 5,4 roztokem *kyseliny fosforečné R* (100 g/l). Průtoková rychlost je 1,2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru při 254 nm.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška píku alkuronie byla nejméně 10 % stupnice zapisovače. Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (d). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu je rozlišení mezi píkem *N-allylstrychninu* a *alkuronie* nejméně 4,0. Nastříkne se po 10 µl zkoušeného roztoku, porovnávacího roztoku (a) a porovnávacího roztoku (c). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *alkuronie*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě plochy hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %) a nejvýše jeden takový pík má plochu větší než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,05 %).

**Voda,** semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 5,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

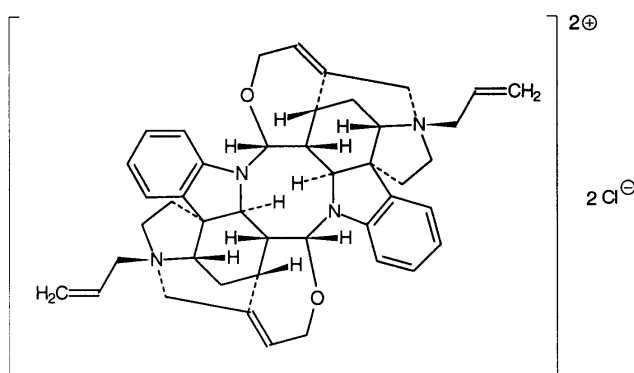
0,300 g se rozpustí 1 min mícháním v 70 ml *acetanhydridu R*. Přidá se 0,1 ml *violeti krystalové RS* jako indikátoru a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS*, až se barva změní z fialovomodré na zelenomodrou.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 36,9 mg  $C_{44}H_{50}Cl_2N_4O_2$ .

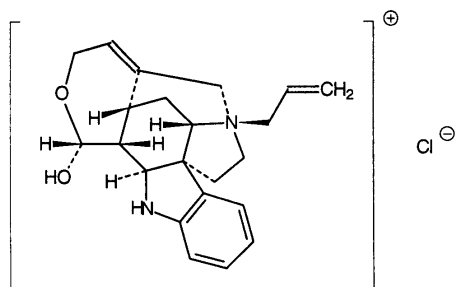
### Uchovávání

Ve vzduchotěsném obalu pod dusíkem, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.  
Separandum.

### Nečistoty



A. (1*R*,3*aS*,9*R*,9*aR*,10*R*,11*aS*,12*R*,14*aS*,19*aS*,20*R*,20*aR*,20*bS*,21*R*,22*aS*)-1,12-diallyl-2,3,9*a*,11,11*a*,13,14,19*a*,20*a*,20*b*,22,22*a*-dodekahydro-10*H*,21*H*-1,23:12,27-dimethano-9,10:20,21-bis(epoxyprop[2]eno)-9*H*,20*H*-[1,5]diazocino[1,2,3-*lm*:5,6,7-*l'm*]dipyrrolo[2,3-*d*:2',3'-*d'*]dikarbazoliumdichlorid<sup>4)</sup> (4,4'-diallylkarakurinium-V-dichlorid),



B. (4*bS*,7*R*,7*aS*,8*aR*,13*R*,13*aR*,13*bS*)-7-allyl-13-hydroxy-5,6,7*a*,8,8*a*,11,13,13*a*,13*b*,14-dekahydro-7,9-methano-7*H*-oxepino[3,4-*a*]pyrrolo[2,3-*d*]karbazoliumchlorid<sup>5)</sup> ((4*R*,17*R*)-4-allyl-17,18-epoxy-17-hydroxy-19,20-didehydrokuraniumchlorid<sup>6)</sup> ((17*S*)-4-allyl-19,20-didehydro-17-hydroxy-17,18-epoxykuraniumchlorid<sup>7)</sup>).

<sup>4)</sup> (1*R*,3*aS*,9*R*,9*aR*,10*R*,11*aS*,12*R*,14*aS*,19*aS*,20*R*,20*aR*,20*bS*,21*R*,22*aS*)-1,12-diallyl-2,3,9*a*,11,11*a*,13,14,19*a*,20*a*,20*b*,22,22*a*-dodekahydro-10*H*,21*H*-1,23:12,27-dimethano-9,10:20,21-bis(epoxyprop[2]eno)-9*H*,20*H*-[1,5]diazocino[1,2,3-*lm*:5,6,7-*l'm*]dipyrrolo[2,3-*d*:2',3'-*d'*]dikarbazolium-dichlorid

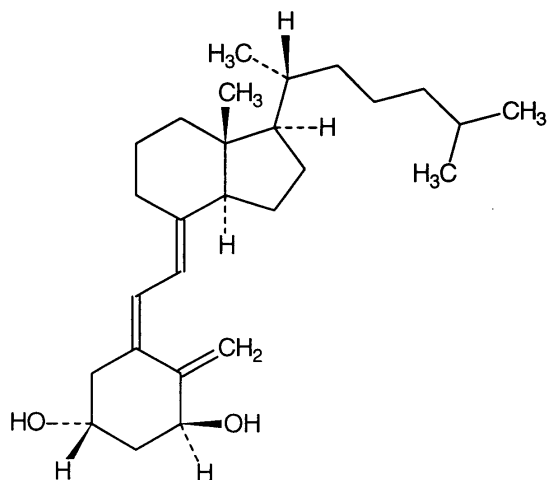
<sup>5)</sup> (4*bS*,7*R*,7*aS*,8*aR*,13*R*,13*aR*,13*bS*)-7-allyl-13-hydroxy-5,6,7*a*,8,8*a*,11,13,13*a*,13*b*,14-dekahydro-7,9-methano-7*H*-oxepino[3,4-*a*]pyrrolo[2,3-*d*]karbazolium-chlorid

<sup>6)</sup> (4*R*,17*R*)-4-allyl-17,18-epoxy-17-hydroxy-19,20-didehydrokuranium-chlorid

<sup>7)</sup> (17*S*)-4-allyl-17-hydroxy-19,20-didehydro-17,18-epoxykuranium-chlorid

†† **Alfacalcidolum**

Alfakalcidol

 $C_{27}H_{44}O_2$  $M_r$  400,64

CAS 41294-56-8

Je to (5*Z*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diol. Obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{27}H_{44}O_2$ .

**Vlastnosti**

Bílé nebo téměř bílé krystaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, dobře rozpustný v mastných olejích. Je citlivý na vzduch, teplo a světlo.

V roztoku dochází k reverzibilní izomerizaci na pre-alfakalcidol v závislosti na teplotě a času. Aktivita je dána oběma sloučeninami.

**Zkoušky totožnosti**

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá referenčnímu spektru Ph. Eur. alfakalcidolu. Měří se tablety připravené z 2 mg zkoušené látky a 150 mg bromidu draselného R.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku retenčním časem a velikostí odpovídá retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Zkoušky na čistotu**

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) popsaná v odstavci Stanovení obsahu.

Z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku se metodou normalizace vypočítá procentuální obsah příbuzných látek, kromě pre-alfakalcidolu, které jsou eluovány po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času alfakalcidolu. Obsah jednotlivých příbuzných látek je nejvýše 0,5 % a součet všech příbuzných látek je nejvýše 1,0 %; nepřihlíží se k píkům menším než 0,1 %.

**Stanovení obsahu**

Provede se co nejrychleji, za ochrany před přímým světlem a vzduchem.



Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 1,0 mg se rozpustí bez zahřátí v 10,0 ml mobilní fáze.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 mg *alfakalcidolu CRL* se rozpustí bez zahřátí v 10,0 ml mobilní fáze.

**Porovnávací roztok (b).** Porovnávací roztok (a) se zředí 100násobně mobilní fází.

**Porovnávací roztok (c).** 2 ml porovnávacího roztoku (a) se zahřívají 2 h ve vodní lázni při 80 °C pod zpětným chladičem a potom se ochladí.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R2* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *amoniaku 17,5% RS*, *vody R* a *acetonitrilu R* (1 + 200 + 800); průtoková rychlost je 2,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 265 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se 100 μl porovnávacího roztoku (c) a zaznamená se chromatogram, celkem šestkrát. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je relativní retenční čas pre-alfakalcidolu, vztaženo k alfa-kalcidolu, asi 1,3. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka odezvy alfa-kalcidolu je nejvýše 1 % a rozlišení mezi píky pre-alfakalcidolu a alfa-kalcidolu je nejméně 4,0. V případě potřeby se upraví poměry složek v mobilní fázi tak, aby bylo dosaženo požadovaného rozlišení.

Nastříkne se 100 μl porovnávacího roztoku (a) a 100 μl porovnávacího roztoku (b) a zaznamenají se chromatogramy. Nastříkne se 100 μl zkoušeného roztoku a zaznamenává se chromatogram za stejných podmínek po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku.

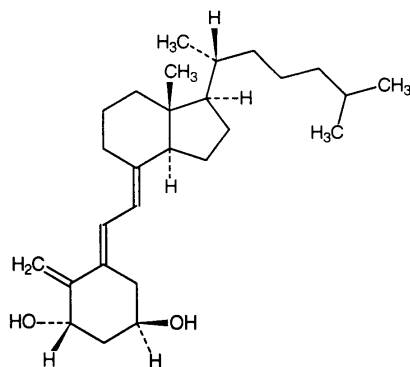
## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, pod dusíkem, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

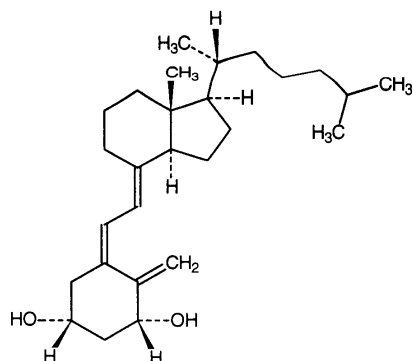
Obsah otevřeného obalu se ihned spotřebuje.

Venenum.

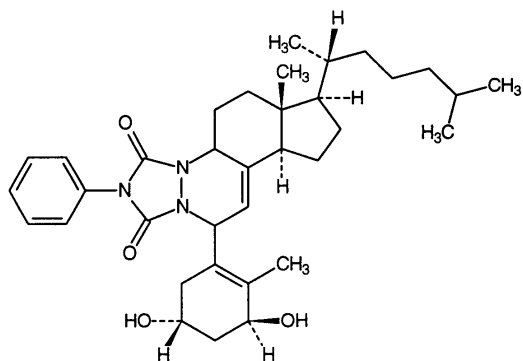
## Nečistoty



A. (5*E*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-1α,3β-diol (trans-alfalcidol),



B. (5Z,7E)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-1β,3β-diol (1β-kalcidol),



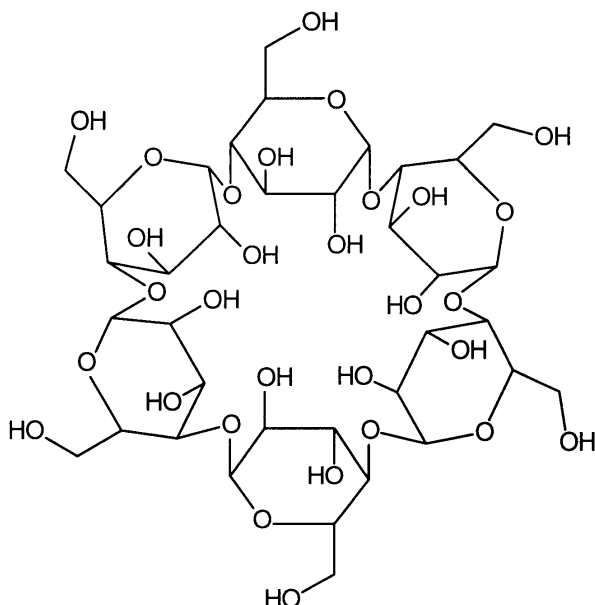
C. triazolinový adukt pre-alfakalcidolu.

25. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Alfacalcidolum doplňuje článek Alfadexum, který zní:

”

## Alfadexum

Alfadex

 $C_{36}H_{60}O_{30}$  $M_r$  972,86

CAS 10016-20-3

Je to cyklomaltohexaosa. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{36}H_{60}O_{30}$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý amorfní nebo krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v propylenglykolu, prakticky nerozpustný v ethanolu a v dichlormethanu.

### Zkoušky totožnosti

- Zkouška specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se retenčním časem a velikostí shoduje s hlavním píkem na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).
- 0,2 g se zahřátím na vodní lázni rozpustí ve 2 ml *jodu RS4* a nechá se stát při pokojové teplotě; vznikne žlutohnědá sraženina.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1,000 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 100,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1).

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,0 až 8,0; měří se roztok připravený smícháním 30 ml roztoku S a 1 ml roztoku *chloridu draselného R* (223,6 g/l).

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +147° až +152°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

#### **Redukující cukry.**

**Zkoušený roztok.** K 1 ml roztoku S se přidá 1 ml *vinanu měďnatého RS4*, 10 min se zahřívá na vodní lázni a pak se ochladí na pokojovou teplotu. Přidá se 10 ml *zkoumadla molybdenan-hexaamonného R1* a nechá se 15 min stát.

**Porovnávací roztok.** Připraví se současně stejným způsobem jako zkoušený roztok za použití 1 ml roztoku *glukosy R* (0,02 g/l).

Měří se absorbance obou roztoků (2.2.25) v maximu při 740 nm za použití *vody R* jako kontrolní tekutiny. Absorbance zkoušeného roztoku není vyšší než absorbance porovnávacího roztoku (0,2 %).

**Absorbující nečistoty.** Měří se absorbance roztoku S (2.2.25) při 230 nm až 750 nm. Absorbance při 230 nm až 350 nm není vyšší než 0,10 a při 350 nm až 750 nm není vyšší než 0,05.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) popsaná ve zkoušce Stanovení obsahu. Nastříkne se zkoušený roztok (a) a porovnávací roztok (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plochy píků odpovídajících betadexu nebo gamacyklodextrinu nejsou větší než polovina plochy odpovídajících píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píků betadexu a gamacyklodextrinu, není větší než polovina plochy píku alfadexu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %).

**Zbytková rozpouštědla.** Nejvýše 10 µg/g trichlorethylenu a nejvýše 10 µg/g toluenu. Stanoví se headspace plynovou chromatografií (2.2.28) za použití metody standardního přídavku a *dichlorethanu R* jako vnitřního standardu.

**Zkoušený roztok.** V každé ze čtyř stejných 20ml lahvíček se rozpustí 500 mg zkoušené látky ve *vodě R*, přidá se po 0,10 g *chloridu vápenatého R* a po 30 µl *α-amylasy RS*. Přidá se po 1 ml porovnávacích roztoků (a), (b), (c) a (d) a zředí se *vodou R* na 10 ml.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se porovnávací roztok (a) obsahující 10 µl *dichlorethanu R*. Z porovnávacího roztoku (a) se připraví porovnávací roztoky (b), (c) a (d) obsahující po 3 µl/l, 10 µl/l a 15 µl/l *trichlorethylenu R* a *toluenu R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 25 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou asi 1µm vrstvou *makrogolu 20 000 R*,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 50 °C, teplota nástřikového prostoru na 140 °C a teplota detektoru na 280 °C. Vzorky se umístí na 2 h do termostatané komory při 45 °C.

Nastříkne se odděleně po 200 µl plynné fáze ze všech nádobek. Nastříknutí se provede nejméně třikrát. Retenční čas toluenu je asi 10 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky trichlorethylenu a toluenu a mezi píky toluenu a dichlorethanu je větší než 1,1 a relativní směrodatné odchylky poměrů ploch píků trichlorethylenu a toluenu k píku dichlorethanu jsou menší než 5 %.

Vypočítá se obsah trichlorethylenu a toluenu za použití jejich relativní hustoty, která je pro trichlorethylen 1,46 a pro toluen 0,87.

**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 10,0 %; 1,000 g se suší 2 h v sušárně při 120 °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).** 0,25 g se zahřátím rozpustí ve *vodě R*, ochladí se a zředí se stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25,0 mg *betadexu CRL*, 25,0 mg *gamacyklodextrinu CRL* a 50,0 mg *alfadexu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 25,0 mg *alfadexu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (10 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R* a *vody R* (10 + 90); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru,
- injektorové smyčky, 50 μl.

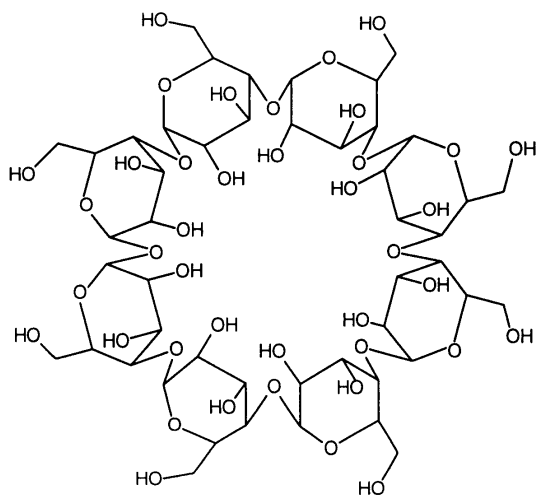
Kolona se promývá do ustavení rovnováhy asi 3 h mobilní fází s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min. Pětkrát se nastříkne porovnávací roztok (a) a zaznamenají se chromatogramy po dobu odpovídající 3,5násobku retenčního času *alfadexu*. Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška píku *gamacyklodextrinu* byla 55 % až 75 % celé stupnice zapisovače. Retenční čas *alfadexu* je asi 4,5 min, relativní retenční čas *gamacyklodextrinu* je asi 0,7 a *betadexu* asi 2,2. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *gamacyklodextrinu* a *alfadexu* je nejméně 1,5 a relativní směrodatná odchylka plochy píku *alfadexu* je menší než 2,0 %. Pokud je to nutné, upraví se koncentrace *methanolu* v mobilní fázi podle potřeby. Nastříkne se odděleně zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (c). Obsah  $C_{36}H_{60}O_{30}$  v procentech se vypočítá z ploch hlavních píků na obou chromatogramech a z deklarovaného obsahu *alfadexu CRL*.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

## Nečistoty

A. *betadex*,



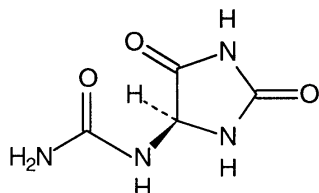
B. *gamacyklodextrin*.

26. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Allantoinum zní:

”

## Allantoinum

Alantoin



a enantiomer

$C_4H_6N_4O_3$

$M_r$  158,12

CAS 97-59-6

Je to (*RS*)-(2,5-dioxoimidazolidin-4-yl)močovina. Obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_4H_6N_4O_3$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.  
Taje při asi 225 °C, za rozkladu.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *alantoinu CRL*.

B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

C. 20 mg se vaří se směsí 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 1 ml *vody R*. Po ochlazení se přidá 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. K 0,1 ml tohoto roztoku se přidá 0,1 ml roztoku *bromidu draselného R* (100 g/l), 0,1 ml roztoku *resorcinolu R* (20 g/l) a 3 ml *kyseliny sírové R*. Zahřívá se 5 min až 10 min na vodní lázni; vzniká tmavě modré zbarvení, které se po ochlazení a přidání k asi 10 ml *vody R* mění na červené.

D. Asi 0,5 g se zahřívá; vznikají páry amoniaku, které barví *papír lakmusový červený R* modře.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,5 g se rozpustí (zahřátím, pokud je to nutné) ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 100 ml.

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 5,0 ml roztoku S se přidá 5 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, 0,1 ml *červeně methylové RS* a 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je žlutý. Po přidání 0,4 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* je roztok červený.

**Optická otáčivost** (2.2.7).  $-0,10^\circ$  až  $+0,10^\circ$ ; měří se úhel optické otáčivosti roztoku S.

**Redukující látky.** 1,0 g se třepe 2 min s 10 ml *vody R*. Zfiltruje se a přidá se 1,5 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l VS*; roztok musí zůstat fialově zbarvený nejméně 10 min.

**Příbuzné látky.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *celulosa pro chromatografii R*.

*Zkoušený roztok (a).* 0,10 g se zahřátím rozpustí v 5,0 ml *vody R*. Po ochlazení se zředí *methanolem R* na 10 ml. *Připraví se těsně před použitím.*

*Zkoušený roztok (b).* 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg *alantoinu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg *močoviny R* se rozpustí v 10 ml *vody R*. 1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (c).* Smíchá se 1 ml porovnávacího roztoku (a) a 1 ml porovnávacího roztoku (b).

Na vrstvu se nanese odděleně 10 µl zkoušeného roztoku (a) a po 5 µl zkoušeného roztoku (b), porovnávacího roztoku (a), porovnávacího roztoku (b) a porovnávacího roztoku (c). Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *1-butanolu R* (15 + 25 + 60) po dráze 10 cm. Po usušení na vzduchu se postříká roztokem *dimethylaminobenzaldehydu R* (5 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *methanolu R* (1 + 3). Vrstva se usuší v proudu horkého vzduchu a po 30 min se pozoruje v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,1 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

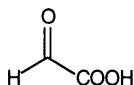
**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,1200 g se rozpustí ve 40 ml *vody R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 15,81 mg  $C_4H_6N_4O_3$ .

### Nečistoty



A. kyselina glyoxylová,

B. močovina.

27. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Alprenololi hydrochloridum doplňuje článek Alprostadilum, který zní:

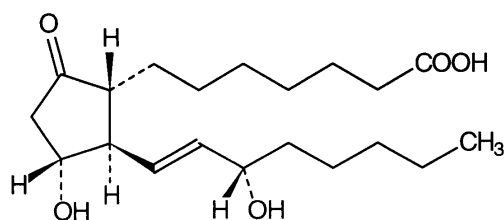
”

## †† Alprostadilum

Alprostadil

Synonymum. Prostaglandin E<sub>1</sub>

2001

C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>M<sub>r</sub> 354,48

CAS 745-65-3

Je to kyselina 7-[(1R,2R,3R)-3-hydroxy-2-[(1E,3S)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyklopentyl]heptanová. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 95,0 % až 102,5 % sloučeniny C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>.

### Vlastnosti

*Vzhled.* Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek.

*Rozpusťnost.* Prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, dobře rozpustný v acetonu a těžce rozpustný v ethylacetatu.

### Zkoušky totožnosti

**A.** Specifická optická otáčivost (2.2.7). –60° až –70°, počítáno na bezvodou látku; měří se roztok připravený v čas potřeby rozpuštěním 50 mg v lihu 96% R a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

**B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

*Porovnání s alprostadilem CRL.*

*Příprava.* Měří se látky ve formě tablet.

**C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu.

*Hodnocení.* Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Roztoky se připraví za ochrany před světlem.*

*Zkoušený roztok.* 10,0 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů acetonitrilu R1 a vody R a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 100 µl zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů acetonitrilu R1 a vody R na 20,0 ml.



*Porovnávací roztok (b).* 1,0 mg *dinoprostonu nečistoty C CRL (alprostadilu nečistoty H)* a 1,0 mg *alprostadilu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R1* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* Jsou-li rozkladné složky (nečistota A a nečistota B) připraveny *in situ*, 1 mg zkoušené látky se rozpustí ve 100  $\mu$ l *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* (roztok se zbarví hnědočerveně), po 3 min se přidá 100  $\mu$ l *kyseliny fosforečné 1 mol/l RS* (žlutobílý opalizující roztok) a zředí se směsí stejných objemových dílů *acetonitrilu R1* a *vody R* na 5,0 ml.

## System A

*Kolona:*

- *rozměry:* délka (*l*) 0,25 m, vnitřní průměr (*d*) 4,0 mm;
- *stacionární fáze:* silikagel oktylsilanizovaný deaktivovaný pro chromatografii bazických látek R (4  $\mu$ m), velikost porů 6 nm;
- *teplota:* 35 °C.

*Mobilní fáze:*

- *mobilní fáze A:* 3,9 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml; pH se upraví roztokem *kyseliny fosforečné R* (2,9 g/l) na hodnotu 2,5 (asi 600 ml). K 740 ml tohoto tlumivého roztoku se přidá 260 ml *acetonitrilu R1*,
- *mobilní fáze B:* 3,9 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml; pH se upraví roztokem *kyseliny fosforečné R* (2,9 g/l) na hodnotu 2,5 (asi 600 ml). K 200 ml tohoto tlumivého roztoku se přidá 800 ml *acetonitrilu R1*.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 75	100	0
75 - 76	100 → 0	0 → 100
76 - 86	0	100
86 - 87	0 → 100	100 → 0
87 - 102	100	0

*Průtoková rychlost.* 1 ml/min.

*Detekce.* Spektrofotometr, 200 nm.

*Nástřík.* Nastříkuje se po 20  $\mu$ l za použití injektorové smyčky.

*Test způsobilosti systému:*

- *retenční čas:* alprostadil asi 63 min,
- *rozlišení:* nejméně 1,5 mezi píkem alprostadilu nečistoty H a píkem alprostadilu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

## System B

Použijí se stejné podmínky jako v systému A s následující mobilní fází a elučním programem:

- *mobilní fáze A:* 3,9 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml; pH se upraví roztokem *kyseliny fosforečné R* (2,9 g/l) na hodnotu 2,5 (asi 600 ml). K 600 ml tohoto tlumivého roztoku se přidá 400 ml *acetonitrilu R1*,
- *mobilní fáze B:* použije se mobilní fáze B popsaná v systému A.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 50	100	0
50 - 51	100 → 0	0 → 100
51 - 61	0	100
61 - 62	0 → 100	100 → 0
62 - 72	100	0

*Test způsobilosti systému:*

- *relativní retenční časy* vztahované na alprostadil (retenční čas je asi 7 min):
- nečistota A: asi 2,4;
- nečistota B: asi 2,6;
- *rozlišení*: nejméně 1,5 mezi píkem nečistoty A a píkem nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Zkouška se provede podle postupu v systému A a B.

*Limity:*

- *korekční faktory*: vynásobením ploch odpovídajících píků korekčními faktory (viz tabulka 1) se získají korigované plochy,
- *nečistota A (korigovaná plocha)*: nejvýše trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,5 %),
- *nečistota B (korigovaná plocha)*: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %),
- *jakákoliv další nečistota (korigovaná plocha)*: nejvýše 1,8násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,9 %). Nejvýše jeden takový pík má plochu větší než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Vyhodnotí se nečistoty, které se objeví v systému A při relativních retenčních časech menších než 1,2 a nečistoty, které se objeví v systému B při relativních retenčních časech větších než 1,2,
- *celkový obsah všech nečistot (korigovaná plocha)*: nejvýše trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,5 %),
- *zanedbatelnost píků*: 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,05 %).

**Tab. 1**

Nečistota	Relativní retenční čas (systém A)	Relativní retenční čas (systém B)	Korekční faktor
nečistota G	0,80	-	0,7
nečistota F	0,88	-	0,8
nečistota D	0,90	-	1,0
nečistota H	0,96	-	0,7
nečistota E	1,10	-	0,7
nečistota C	-	1,36	1,9
nečistota K	-	1,85	0,06
nečistota A	-	2,32	0,7
nečistota B	-	2,45	1,5
nečistota I	-	4,00	1,0
nečistota J	-	5,89	1,0

**Voda**, mikrostanovení (2.5.32). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 50 mg zkoušené látky.

**Stanovení obsahu**

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Příbuzné látky, systém A, viz Zkoušky na čistotu.

*Roztoky se připraví za ochrany před světlem.*

**Zkoušený roztok.** 10,0 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R1* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 25,0 ml. 3,0 ml tohoto roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů *acetonitrilu R1* a *vody R* na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok.** 10,0 mg *alprostadilu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R1* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 25,0 ml. 3,0 ml tohoto roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů *acetonitrilu R1* a *vody R* na 20,0 ml.

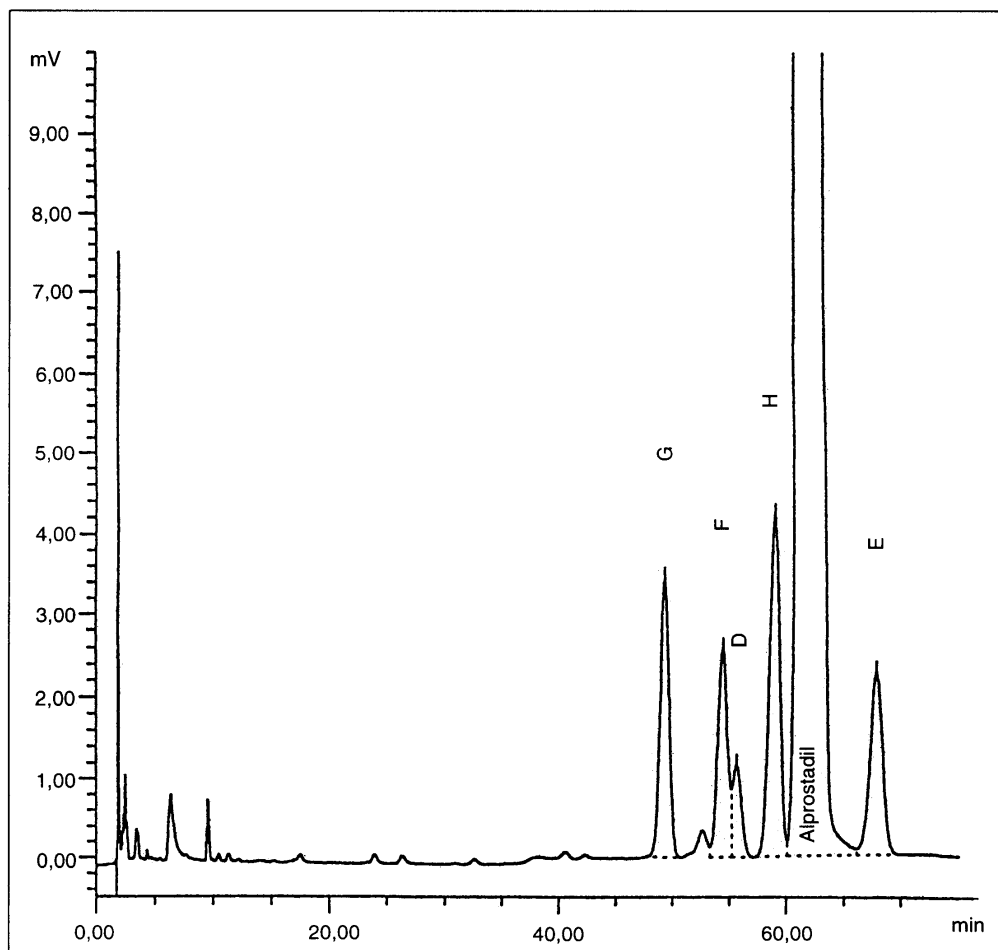
**Nástřík.** Nastříkuje se po 20  $\mu$ l.

Vypočítá se obsah  $C_{20}H_{34}O_5$  v procentech.

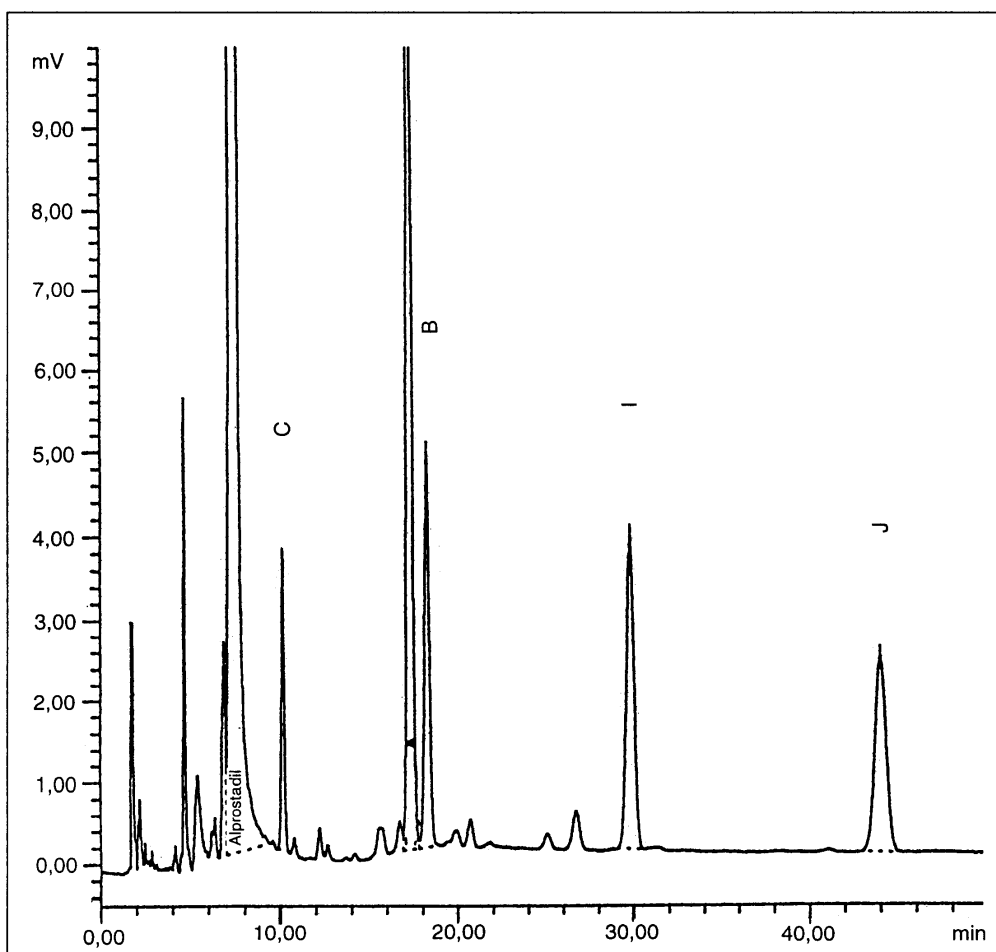
## Uchovávání

Při teplotě 2 °C až 8 °C.  
Venenum.

Následující vzorové chromatogramy jsou uvedeny jen pro informaci, netvoří závaznou část článku.

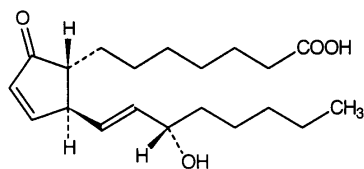


**Obr. 1** Vzorový chromatogram pro zkoušku Příbuzné látky (systém A).

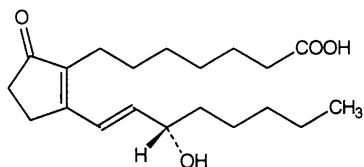


Obr. 2 Vzorový chromatogram pro zkoušku Příbuzné látky (systém B).

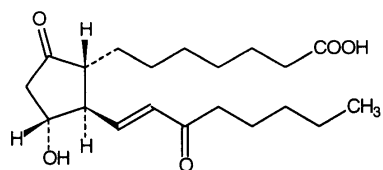
### Nečistoty



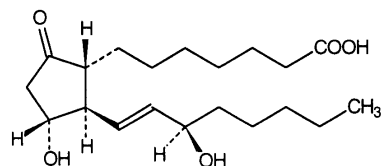
A. kyselina 7-((1*R*,2*S*)-2-[(1*E*,3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyklopent-3-enyl)heptanová (prostaglandin A<sub>1</sub>),



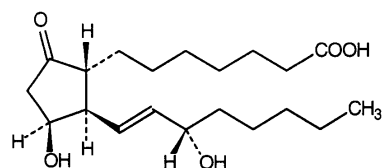
B. kyselina 7-{2-[(1*E*,3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyklopent-1-enyl}heptanová (prostaglandin B<sub>1</sub>),



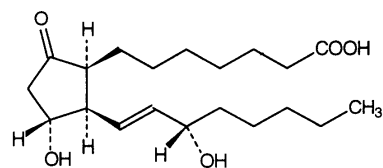
C. kyselina 7- $\{(1R,2R,3R)$ -3-hydroxy-2- $\{(1E)$ -3-oxooct-1-enyl $\}$ -5-oxocyklopentyl $\}$ heptanová (15-oxoprostaglandin  $E_1$ ),



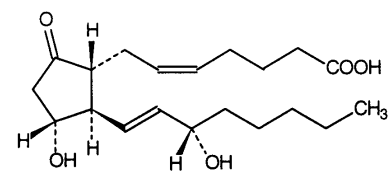
D. kyselina 7- $\{(1R,2R,3R)$ -3-hydroxy-2- $\{(1E,3R)$ -3-hydroxyoct-1-enyl $\}$ -5-oxocyklopentyl $\}$ heptanová (15-epiprostaglandin  $E_1$ ),



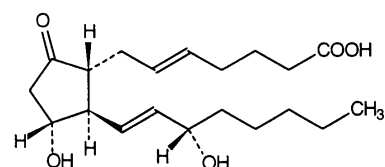
E. kyselina 7- $\{(1R,2R,3S)$ -3-hydroxy-2- $\{(1E,3S)$ -3-hydroxyoct-1-enyl $\}$ -5-oxocyklopentyl $\}$ heptanová (11-epiprostaglandin  $E_1$ ),



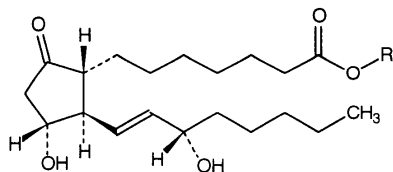
F. kyselina 7- $\{(1S,2R,3R)$ -3-hydroxy-2- $\{(1E,3S)$ -3-hydroxyoct-1-enyl $\}$ -5-oxocyklopentyl $\}$ heptanová (8-epiprostaglandin  $E_1$ ),



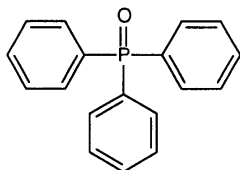
G. kyselina (5Z)-7- $\{(1R,2R,3R)$ -3-hydroxy-2- $\{(1E,3S)$ -3-hydroxyoct-1-enyl $\}$ -5-oxocyklopentyl $\}$ hept-5-enová (dinoprost, prostaglandin  $E_2$ ),



H. kyselina (5E)-7- $\{(1R,2R,3R)$ -3-hydroxy-2- $\{(1E,3S)$ -3-hydroxyoct-1-enyl $\}$ -5-oxocyklopentyl $\}$ hept-5-enová ((5E)-prostaglandin  $E_2$ ),



- I. R = CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: ethyl-7-((1*R*,2*R*,3*R*)-3-hydroxy-2-[(1*E*,3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyklopentyl)heptanoát<sup>1)</sup> (ethylester prostaglandinu E<sub>1</sub>),  
 J. R = CH<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: isopropyl-7-((1*R*,2*R*,3*R*)-3-hydroxy-2-[(1*E*,3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxo-cyklopentyl)heptanoát<sup>2)</sup> (isopropylester prostaglandinu E<sub>1</sub>),



K. trifenylfosfinoxid.

“

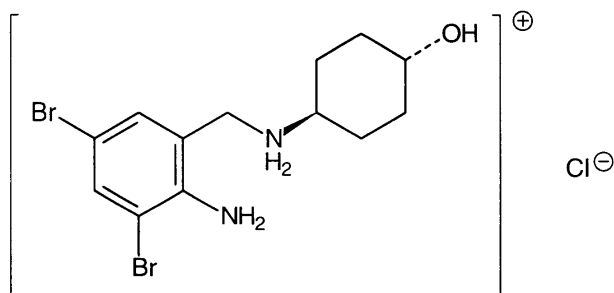
28. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Amantadini hydrochloridum doplňuje článek Ambroxoli hydrochloridum, který zní:

”

## † Ambroxoli hydrochloridum

Ambroxoliumchlorid

2001 



C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>ClN<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 414,57

CAS 15942-05-9

<sup>1)</sup> ethyl-7-((1*R*,2*R*,3*R*)-3-hydroxy-2-[(1*E*,3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyklopentyl)heptanoát

<sup>2)</sup> isopropyl-7-((1*R*,2*R*,3*R*)-3-hydroxy-2-[(1*E*,3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyklopentyl)heptanoát

Je to *trans-N*-(2-amino-3,5-dibrombenzyl)-4-hydroxycyklohexan-1-ylamoniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>ClN<sub>2</sub>O.

### Vlastnosti

*Vzhled.* Bílý nebo nažloutlý krystalický prášek.

*Rozpustnost.* Mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek: B a D.*

*Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).*

**A.** 20,0 mg se rozpustí v *kyselině sírové 0,05 mol/l RS* a zředí se jí na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *kyselinou sírovou 0,05 mol/l RS* na 10,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 200 nm až 350 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 245 nm a 310 nm. Poměr absorbance v maximum při 245 nm k absorbanci v maximum při 310 nm je 3,2 až 3,4.

**B.** *Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).*

*Porovnání s ambroxoliumchloridem CRL.*

**C.** *Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27).*

*Zkoušený roztok.* 50 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

*Porovnávací roztok.* 50 mg *ambroxoliumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

*Stacionární fáze.* Deska s vrstvou *silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Mobilní fáze.* Směs objemových dílů *amoniaku 26% R, 1-propanolu R, ethylacetatu R a hexanu R (1 + 10 + 20 + 70)*.

*Nanášení.* Po 10 µl.

*Vyvíjení.* Po dráze delší než 2/3 desky.

*Sušení.* Na vzduchu.

*Detekce.* Pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm.

*Hodnocení.* Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**D.** 25 mg se rozpustí v 2,5 ml *vody R*, smíchá se s 1,0 ml *amoniaku zředěného RSI* a nechá se 5 min stát. Zfiltruje se a filtrát se okyselí *kyselinou dusičnou zředěnou RS*. Filtrát vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,75 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 15 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)*.

**Hodnota pH (2.2.3).** 4,5 až 6,0. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,2 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 20 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Roztoky se připravují těsně před použitím.*

*Zkoušený roztok.* 50,0 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *vodou R* na 250,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5 mg zkoušené látky se rozpustí v 0,2 ml *methanolu R* a přidá se 0,04 ml směsi objemových dílů *formaldehydu R a vody R (1 + 99)*. 5 min se zahřívá při 60 °C a odpaří se do sucha pod proudem dusíku. Zbytek se rozpustí v 5 ml *vody R* a zředí se mobilní fází na 20 ml.

*Kolona:*

<sup>1)</sup> *trans-N*-(2-amino-3,5-dibrombenzyl)-4-hydroxycyklohexan-1-ylamonium-chlorid

- *rozměry*: délka je 0,25 m, vnitřní průměr je 4,0 mm,

- *stacionární fáze*: silikagel oktadecylsilanizovaný pro chromatografii R (5 μm).

*Mobilní fáze*. Připraví se směs stejných objemových dílů acetonitrilu R a roztoku připraveného takto: 1,32 g fosforečnanu amonného R se rozpustí v 900 ml vody R, pH se upraví na hodnotu 7,0 kyselinou fosforečnou R a zředí se vodou R na 1000 ml.

*Průtoková rychlost*. 1 ml/min.

*Detekce*. Spektrofotometr při 248 nm.

*Nástřik*. Nastříkuje se po 20 μl.

*Citlivost*. Porovnávací roztok (a).

*Doba záznamu*. Trojnásobek retenčního času hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku.

*Test způsobilosti systému*:

- *rozlišení*: nejméně 4,0 mezi píkem nečistoty B a píkem ambroxolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

*Limity*:

- *jakákoliv nečistota*: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %),

- *celkový obsah všech nečistot*: nejvýše trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,3 %),

- *zanedbatelnost píků*: 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Těžké kovy (2.4.8)**. Nejvýše 20 μg/g; 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy. 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 70 ml lihu 96% R a přidá se 5 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS. Titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

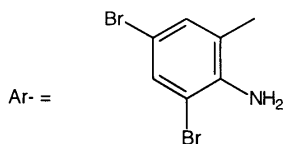
1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 41,46 mg C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>ClN<sub>2</sub>O.

### Uchovávání

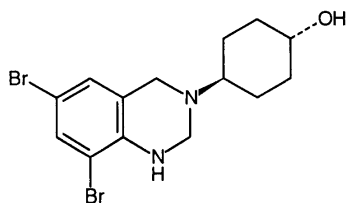
Chráněn před světlem.

Separandum.

### Nečistoty

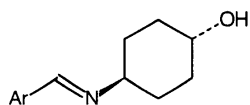


A. Ar-CH<sub>2</sub>OH: (2-amino-3,5-dibromfenyl)methanol,

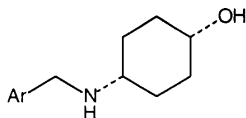


B. *trans*-4-(6,8-dibrom-1,4-dihydrochinazolin-3(2*H*)-yl)cyclohexanol,





C. *trans*-4-[[*(E)*-2-amino-3,5-dibrombenzyliden]amino]cyklohexanol,



D. *cis*-4-[(2-amino-3,5-dibrombenzyl)amino]cyklohexanol,

E. Ar-CH = O: 2-amino-3,5-dibrombenzaldehyd.

“

29. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Amiloridi hydrochloridum zní:

”

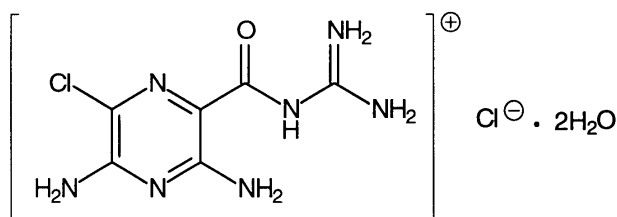
## † Amiloridi hydrochloridum dihydricum

Dihydrát amiloridumchloridu

*Synonyma.* Amiloridum chloratum, Amiloridi hydrochloridum



2001



$C_6H_9Cl_2N_7O \cdot 2H_2O$

$M_r$  302,12

CAS 17440-83-4

Je to dihydrát 1-(3,5-diamino-6-chlor-2-pyrazinkarbonyl)guanidiniumchloridu<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_6H_9Cl_2N_7O$ .

### Vlastnosti

Světle žlutý až zelenožlutý prášek. Je těžce rozpustný ve vodě a v ethanolu.

<sup>1)</sup> 1-(3,5-diamino-6-chlor-2-pyrazinkarbonyl)guanidinium-chloridu

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *dihydrátu amiloridumchloridu CRL*.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

*Zkoušený roztok.* 40 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 40 mg *dihydrátu amiloridumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se čerstvě připravenou směsí objemových dílů *amoniaku zředěného RS1*, *vody R* a *dioxanu R* (6 + 6 + 88) po dráze 12 cm. Po usušení na vzduchu se vrstva pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou, fluorescencí a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Asi 10 mg se rozpustí v 10 ml *vody R*, přidá se 10 ml roztoku *cetrimidu R* (200 g/l), 0,25 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 1 ml *bromové vody R*; vznikne zelenožluté zbarvení. Po přidání 2 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* se zbarvení změní na tmavě žluté a roztok v ultrafialovém světle při 365 nm modře fluoreskuje.

D. Vyhovuje zkoušce (b) na chloridy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Volné kyseliny.** 1,0 g se rozpustí ve směsi 50 ml *methanolu R* a 50 ml *vody R* a 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* není větší než 0,3 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 20,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (1 + 3) na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (1 + 3) na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 20,0 mg *amiloridu nečistoty A CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *tetramethylamoniumhydroxidu RS*, *acetonitrilu R* a *vody R* (5 + 250 + 745), jejíž pH bylo upraveno na hodnotu 7,0 za použití směsi objemových dílů *kyseliny fosforečné R* a *vody R* (1 + 9); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c) a upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi tak, aby retenční čas *amiloridu nečistoty A* byl 5 min až 6 min (zvýšení koncentrace acetonitrilu zkracuje retenční čas). Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a) a upraví se koncentrace tetramethylamoniumhydroxidu a kyseliny fosforečné pro udržení pH na hodnotě 7,0 tak, aby retenční čas *amiloridu* byl 9 min až 12 min (zvýšení koncentrace zkracuje tento retenční čas). Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b); zkoušku lze hodnotit, jestliže poměr signálu píku *amiloridu* k šumu je nejméně 5,0.

Nastříkne se odděleně 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 5násobku retenčního času píku *amiloridu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch píků, kromě píku odpovídajícího *amiloridu*, není větší než plocha píku odpovídajícího *amiloridu nečistoty A* na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 10 % plochy píku *amiloridu nečistoty A* na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 11,0 % až 13,0 %; stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### 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 (2.2.20) bodu ekvivalence. Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

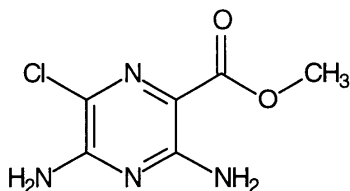
1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 26,61 mg  $C_6H_9Cl_2N_7O$ .

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

### Nečistoty



A. methyl-3,5-diamino-6-chloropyrazin-2-karboxylát<sup>2)</sup>.

“

---

<sup>2)</sup> methyl-3,5-diamino-6-chloropyrazin-2-karboxylát

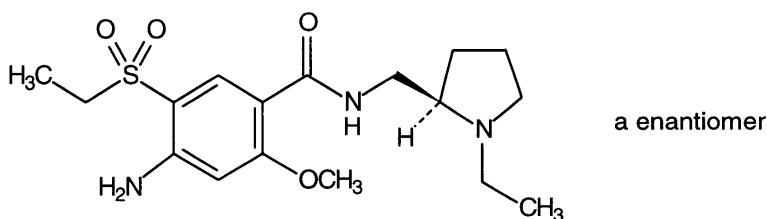
30. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Amiodaroni hydrochloridum doplňuje článek Amisulpridum, který zní:

”

## † Amisulpridum

Amisulprid

2001

C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>SM<sub>r</sub> 369,48

CAS 71675-85-9

Je to 4-amino-*N*-{[(2*RS*)-1-ethylpyrrolidin-2-yl]methyl}-5-(ethylsulfonyl)-2-methoxybenzamid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S.

### Vlastnosti

*Vzhled.* Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek.

*Rozpustnost.* Prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v ethanolu.

Taje při asi 126 °C.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

Porovnání s amisulpridem CRL.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 1,0 g se rozpustí ve 3 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové R* a *vody R* (1 + 4) a zředí se *vodou R* na 20 ml. Takto připravený roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zabarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>6</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Optická otáčivost** (2.2.7): -0,10° až +0,10°; měří se úhel optické otáčivosti roztoku připraveného rozpuštěním 5,0 g v *dimethylformamidu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Nečistota A.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.7).

*Zkoušený roztok.* 0,20 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 20 mg *amisulpridu nečistoty A CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 20 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (a) na 10 ml.

*Stacionární fáze.* Deska s vrstvou *silikagelu G pro TLC R*.

<sup>1)</sup> 4-amino-*N*-{[(2*RS*)-1-ethylpyrrolidin-2-yl]methyl}-5-(ethylsulfonyl)-2-methoxybenzamid

**Mobilní fáze.** Horní vrstva, která se oddělí při protřepání směsi objemových dílů roztoku *amoniaku 26 % R 50 % (V/V), ethanolu R a diisopropyletheru R (10 + 25 + 65)*.

**Nanášení.** Po 10  $\mu$ l každého roztoku.

**Vyvíjení.** Po dráze delší než 12 cm.

**Sušení.** Na vzduchu.

**Detekce.** Vrstva se postříká *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C.

**Test způsobilosti systému.** Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**Limity:**

- *nečistota A:* skvrna odpovídající nečistotě A na chromatogramu zkoušeného roztoku není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %).

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 0,10 g se rozpustí ve 30 ml *methanolu R* a zředí se mobilní fází B na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (30 + 70) na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí mobilních fází na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5 mg *amisulpridu nečistoty B CRL* se rozpustí v 5 ml zkoušeného roztoku a zředí se směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (30 + 70) na 50 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí mobilních fází na 10 ml.

**Kolona:**

- *rozměry:* délka (*l*) 0,25 m, vnitřní průměr (*d*) 4,6 mm;

- *stacionární fáze:* *silikagel oktylsilanizovaný pro chromatografii R (5  $\mu$ m)* s těmito vlastnostmi: obsah uhlíku 16 %, specifická plocha povrchu 330 m<sup>2</sup>/g, velikost pórů 7,5 nm.

**Mobilní fáze:**

- *mobilní fáze A - methanol R;*

- *mobilní fáze B - roztok oktansulfonanu sodného R (0,7 g/l) v roztoku kyseliny sírové zředěné RS 0,25 % (V/V).*

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 18	30 → 36	70 → 64
18 - 35	36 → 52	64 → 48
35 - 45	52	48
45 - 46	52 → 30	48 → 70
46 - 56	30	70

**Průtoková rychlost.** 1,5 ml/min.

**Detekce.** Spektrofotometr při 225 nm.

**Nástřík.** Nástříkuje se injektorovou smyčkou po 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku, porovnávacího roztoku (a) a porovnávacího roztoku (b).

**Test způsobilosti systému:**

- *rozlišení:* nejméně 2,0 mezi píkem amisulpridu a píkem nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Limity:**

- *jakákoliv nečistota:* nejvýše 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %);

- *celkový obsah všech nečistot:* nejvýše 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,3 %);

- *zanedbatelnost píků:* 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,02 %).

**Chloridy (2.4.4).** Nejvýše 200  $\mu$ g/g; 0,5 g se třepe 10 min s 30 ml *vody R* a zfiltruje se. 15 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce na chloridy.

**Těžké kovy (2.4.8).** Nejvýše 10 µg/g; 4,0 g se rozpustí mírným zahřátím v 5 ml *kyseliny octové zředěné RS*, potom se ochladí a zředí se *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy. Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (2 µg Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 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

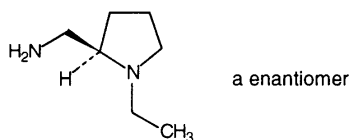
0,300 g se rozpustí třepáním ve směsi obsahující 5 ml *acetanhydridu R* a 50 ml *kyseliny octové bezvodé R*. Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 36,95 mg C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S.

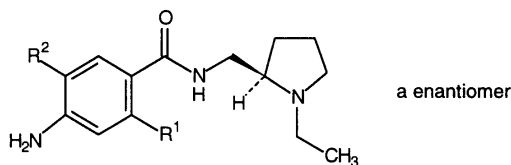
### Uchovávání

Separandum.

### Nečistoty



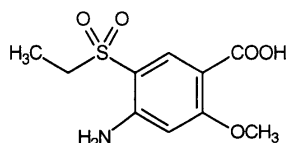
A. (2*RS*)-1-ethylpyrrolidin-2-yl)methylamin,



B. R<sup>1</sup> = OH, R<sup>2</sup> = SO<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: 4-amino-N-{{(2*RS*)-1-ethylpyrrolidin-2-yl)methyl}-5-(ethylsulfonyl)-2-hydroxybenzamid<sup>2)</sup>,

C. R<sup>1</sup> = OCH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = I: 4-amino-N-{{(2*RS*)-1-ethylpyrrolidin-2-yl)methyl}-5-jod-2-methoxybenzamid<sup>3)</sup>,

D. R<sup>1</sup> = OCH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = SO<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: 4-amino-N-{{(2*RS*)-1-ethylpyrrolidin-2-yl)methyl}-2-methoxy-5-(methylsulfonyl)benzamid<sup>4)</sup>,



E. kyselina 4-amino-5-(ethylsulfonyl)-2-methoxybenzoová.

<sup>2)</sup> 4-amino-N-{{(2*RS*)-1-ethylpyrrolidin-2-yl)methyl}-5-(ethylsulfonyl)-2-hydroxybenzamid

<sup>3)</sup> 4-amino-N-{{(2*RS*)-1-ethylpyrrolidin-2-yl)methyl}-5-jod-2-methoxybenzamid

<sup>4)</sup> 4-amino-N-{{(2*RS*)-1-ethylpyrrolidin-2-yl)methyl}-2-methoxy-5-(methylsulfonyl)benzamid

“

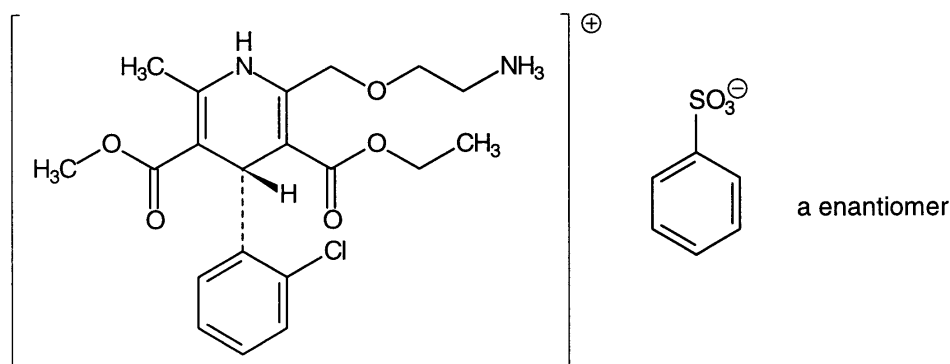
31. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Amitriptilini hydrochloridum doplňuje článek Amlodipini besilas, který zní:

”

## † Amlodipini besilas

Amlodipiniumbesilat

2001



$C_{26}H_{31}ClN_2O_8S$

$M_r$  567,05

CAS 111470-99-6

Je to (4*RS*)-2-[[4-(2-chlorfenyl)-3-ethoxykarbonyl-5-methoxykarbonyl-6-methyl-1,4-dihydro-pyridin-2-yl]methoxy]ethylamoniumbenzensulfonát<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{26}H_{31}ClN_2O_8S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, mírně rozpustný v ethanolu, těžce rozpustný v 2-propanolu.

### 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 odpovídá spektru *amlodipiniumbesilatu CRL*. Látky se zkouší ve formě suspenzí.

<sup>1)</sup> (4*RS*)-2-[[4-(2-chlorfenyl)-3-ethoxykarbonyl-5-methoxykarbonyl-6-methyl-1,4-dihydro-pyridin-2-yl]methoxy]ethylamonium-benzensulfonát

- B.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné látky, metoda A, v ultrafialovém světle při 366 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) polohou, barvou a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C.** 5,0 mg se rozpustí v roztoku *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS v methanolu R 1 % (V/V)* a zředí se tímto roztokem na 100,0 ml. Měří se absorbance při 300 nm až 400 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 360 nm. Specifická absorbance v maximum je 113 až 121.

### Zkoušky na čistotu

**Optická otáčivost (2.2.7).**  $-0,10^\circ$  až  $+0,10^\circ$ ; měří se úhel optické otáčivosti roztoku připraveného rozpouštěním 0,250 g v *methanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

### 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 (a).* 0,140 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 2,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 7,0 mg *amlodipiniumbesilatu CRL* se rozpustí v 1,0 ml *methanolu R*.

*Porovnávací roztok (b).* 3,0 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 1,0 mg *amlodipinu nečistoty C CRL* se rozpustí v 5 ml porovnávacího roztoku (b) a zředí se *methanolem R* na 10,0 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se horní vrstvou směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *isobutylmethylketonu R* (25 + 25 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 15 min při 80 °C a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm a 366 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %) a nejvýše dvě skvrny jsou intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**B.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsáním ve Stanovení obsahu.

Nastříkne se zkoušený roztok (a), zkoušený roztok (b) a porovnávací roztoky (c), (d) a (e). Chromatogram zkoušeného roztoku (a) se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času *amlodipiniumbesilatu*. Na tomto chromatogramu není plocha píku nečistoty D větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku nečistoty D, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,3 %). Nepřehlídí se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,03 %).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 3,000 g zkoušené látky.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok (a).* 50,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50,0 mg *amlodipiniumbesilatu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 mg *amlodipinu nečistoty D CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 3,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 3,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml a 5,0 ml tohoto roztoku se dále zředí mobilní fází na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (e).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (b) a 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:



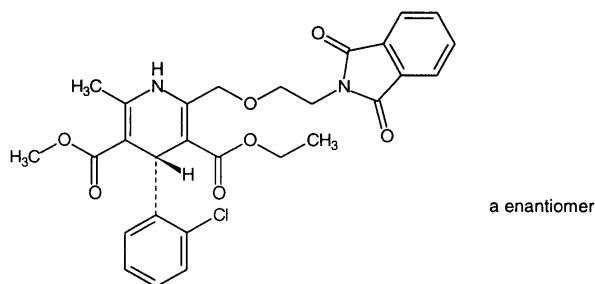
- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R*, *methanolu R* a roztoku připraveného rozpuštěním 7,0 ml *triethylaminu R* v 1 l *vody R*, jehož hodnota pH byla upravena *kyselinou fosforečnou R* na 3,0 ± 0,1, (15 + 35 + 50). Průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 237 nm.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku (b), 10 μl porovnávacího roztoku (a) a 10 μl porovnávacího roztoku (c). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky píků byly asi 80 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je rozlišení mezi píky amlodipinu a amlodipinu nečistoty D nejméně 4,5. Vypočítá se obsah amlodipiniumbesilatu z ploch píků a deklarovaného obsahu C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S v *amlodipiniumbesilatu CRL*.

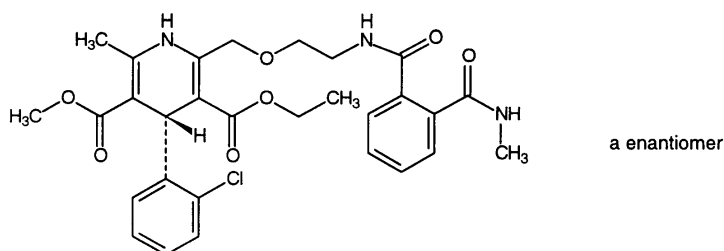
### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

### Nečistoty



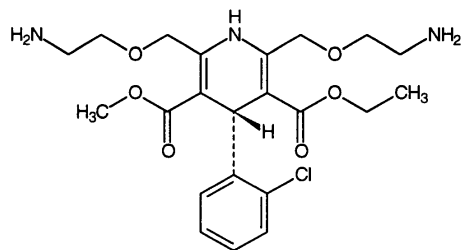
A. 3-ethyl-5-methyl-(4*RS*)-4-(2-chlorfenyl)-2-[[2-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2*H*-isoindol-2-yl)ethoxy]methyl]-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylat<sup>2)</sup>,



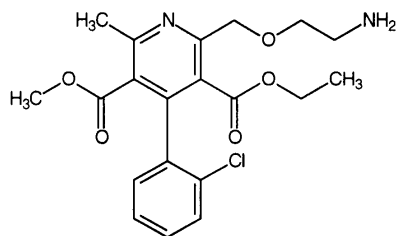
B. 3-ethyl-5-methyl-(4*RS*)-4-(2-chlorfenyl)-6-methyl-2-[[2-[(methylkarbamoyl)benzoyl]amino]ethoxy]methyl]-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylat<sup>3)</sup>,

<sup>2)</sup> 3-ethyl-5-methyl-(4*RS*)-4-(2-chlorfenyl)-2-[[2-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2*H*-isoindol-2-yl)ethoxy]methyl]-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylát

<sup>3)</sup> 3-ethyl-5-methyl-(4*RS*)-4-(2-chlorfenyl)-6-methyl-2-[[2-[[2-(methylkarbamoyl)benzoyl]amino]ethoxy]methyl]-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylát



a enantiomer

C. ethyl-methyl-(4*RS*)-2,6-bis[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-chlorfenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylát<sup>4)</sup>,D. 3-ethyl-5-methyl-2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-chlorfenyl)-6-methylpyridin-3,5-dikarboxylát<sup>5)</sup>.

“

32. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Amygdalae oleum raffinatum* zní:

”

## Amygdalae oleum raffinatum

Mandlový olej čištěný

*Synonymum.* Oleum amygdalae raffinatum

CAS 8007-69-0

Je to mastný olej získaný lisováním za studena ze zralých semen druhu *Prunus dulcis* (MILL.) D. A. WEBB var. *dulcis* nebo *Prunus dulcis* (MILL.) D. A. WEBB var. *amara* (D. C.) BUCHHEIM nebo ze směsi obou odrůd a následným čištěním. Může obsahovat vhodný antioxidant.

### Vlastnosti

Slabě žlutá čirá kapalina. Je těžce rozpustný v lihu 96%, mísitelný s etherem petrolejovým.

Tuhne při teplotě asi  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Relativní hustota je asi 0,916.

<sup>4)</sup> ethyl-methyl-(4*RS*)-2,6-bis[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-chlorfenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylát

<sup>5)</sup> 3-ethyl-5-methyl-2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-chlorfenyl)-6-methylpyridin-3,5-dikarboxylát

## Zkoušky totožnosti

- A. Proveďte se zkouška Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií (2.3.2). Získaný chromatogram odpovídá charakteristickému chromatogramu mandlového oleje.
- B. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

## Zkoušky na čistotu

**Absorbance** (2.2.25). 0,100 g se rozpustí v *cyklohexanu R* a zředí se jím na 10,0 ml. Absorbance roztoku měřená v maximu při 264 nm až 276 nm je 0,2 až 6,0.

**Číslo kyselosti** (2.5.1). Nejvýše 0,5; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

**Číslo peroxidové** (2.5.5). Nejvýše 5,0.

**Nezmýdelnitelné látky** (2.5.7). Nejvýše 0,7 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

**Podíl mastných kyselin** (2.4.22, *Metoda A*). Podíl mastných kyselin má toto složení:

- nasycené mastné kyseliny s délkou řetězce méně než  $C_{16}$ : nejvýše 0,1 %,
- kyselina palmitová: 4,0 % až 9,0 %,
- kyselina palmitolejová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 16,3): nejvýše 0,6 %,
- kyselina margarová: nejvýše 0,2 %,
- kyselina stearová: nejvýše 3,0 %,
- kyselina olejová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 18,3): 62,0 % až 86,0 %,
- kyselina linolová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 18,9): 20,0 % až 30,0 %,
- kyselina linolenová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 19,7): nejvýše 0,4 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 0,2 %,
- kyselina ikosenová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 20,3): nejvýše 0,3 %,
- kyselina behenová: nejvýše 0,2 %,
- kyselina eruková (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 22,3): nejvýše 0,1 %.

**Steroly**. Proveďte se zkouška Steroly v mastných olejích (2.4.23). Podíl sterolů má toto složení:

- cholesterol: nejvýše 0,7 %,
- kampesterol: nejvýše 5,0 %,
- stigmasterol: nejvýše 4,0 %,
- $\beta$ -sitosterol: 73,0 % až 87,0 %,
- $\Delta^5$ -avenasterol: nejméně 5,0 %,
- $\Delta^7$ -avenasterol: nejvýše 3,0 %,
- $\Delta^7$ -stigmastenol: nejvýše 3,0 %,
- brassikasterol: nejvýše 0,3 %.

**Voda**, mikrostanovení (2.5.32). Nejvýše 0,1 %, pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků; stanoví se s 5,000 g zkoušené látky.

## Uchovávání

Ve zcela naplněných obalech, chráněn před světlem.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- zda je látka vhodná pro výrobu parenterálních přípravků,
- název a koncentrace použitých antioxidantů.

33. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Amygdalae oleum zní:

”

## Amygdalae oleum virginale

Mandlový olej panenský

*Synonymum.* Amygdalae oleum virgineum, Amygdalae oleum



CAS 8007-69-0

Je to mastný olej získaný lisováním za studena ze zralých semen druhu *Prunus dulcis* (MILL.) D. A. WEBB var. *dulcis* nebo *Prunus dulcis* (MILL.) D. A. WEBB var. *amara* (D. C.) BUCHHEIM nebo ze směsi obou odrůd.

### Vlastnosti

Žlutá čirá kapalina. Je těžce rozpustný v lihu 96%, mísitelný s etherem petrolejovým. Tuhne při teplotě asi  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Relativní hustota je asi 0,916.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: A a B, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Zkouška Absorbance, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Provede se zkouška Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií (2.3.2).  
Získaný chromatogram odpovídá charakteristickému chromatogramu pro mandlový olej.
- C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Absorbance** (2.2.25). 0,100 g se rozpustí v *cyklohexanu R* a zředí se jím na 10,0 ml. Absorbance roztoku měřená v maximu při 264 nm až 276 nm není větší než 0,2. Poměr absorbance při 232 nm k absorbanci při 270 nm je větší než 7.

**Číslo kyselosti** (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

**Číslo peroxidové** (2.5.5). Nejvýše 15,0.

**Nezmýdelnitelné látky** (2.5.7). Nejvýše 0,7 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

**Podíl mastných kyselin** (2.4.22, *Metoda A*). Podíl mastných kyselin má toto složení:

- nasycené mastné kyseliny s délkou řetězce méně než  $C_{16}$ : nejvýše 0,1 %,
- kyselina palmitová: 4,0 % až 9,0 %,
- kyselina palmitolejová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 16,3): nejvýše 0,6 %,
- kyselina margarová: nejvýše 0,2 %,
- kyselina stearová: nejvýše 3,0 %,
  
- kyselina olejová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 18,3): 62,0 % až 86,0 %,
- kyselina linolová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 18,9): 20,0 % až 30,0 %,
- kyselina linolenová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 19,7): nejvýše 0,4 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 0,2 %,
- kyselina ikosenová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 20,3): nejvýše 0,3 %,

- kyselina behenová: nejvýše 0,2 %,
- kyselina eruková (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 22,3): nejvýše 0,1 %.

**Steroly.** Proveďte se zkouška Steroly v mastných olejích (2.4.23). Podíl sterolů obsahuje:

- cholesterol: nejvýše 0,7 %,
- kampesterol: nejvýše 4,0 %,
- stigmasterol: nejvýše 3,0 %,
- $\beta$ -sitosterol: 73,0 % až 87,0 %,
- $\Delta$ 5-avenasterol: nejméně 10,0 %,
- $\Delta$ 7-avenasterol: nejvýše 3,0 %,
- $\Delta$ 7-stigmastenol: nejvýše 3,0 %,
- brassikasterol: nejvýše 0,3 %.

### Uchovávání

Ve zcela naplněných obalech, chráněn před světlem.

“

34. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Aqua pro iniectione zní:

”

---

## Aqua pro iniectione

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 čistěné 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 vhodný akční limit celkového počtu živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) je 10 mikroorganismů na 100 ml; stanoví se membránovou filtrací za použití Agarové půdy 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 přemístí 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 µg NO<sub>3</sub>/ml) (0,2 µg/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 roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (0,1 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml základního roztoku *olova* (1 µg Pb/ml).

**Hliník** (2.4.17). Je-li látka určena k výrobě dialyzačních roztoků, vyhovuje zkoušce na hliník provedené 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 µg/l). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *hliníku* (2 µg 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 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:

**Kyselý 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). Pro obaly se jmenovitým objemem 10 ml nebo méně, je vodivost nejvýše 25 µS.cm<sup>-1</sup>; pokud je jmenovitý objem větší než 10 ml, je vodivost nejvýše 5 µS.cm<sup>-1</sup>.

**Oxidovatelné látky.** 100 ml se vaří s 10 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, přidá se 0,2 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l VS* a 5 min se vaří; roztok zůstane slabě růžový.

**Chloridy** (2.4.4). 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 svislé 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 *tetrajordortu'natanu draselného zásaditého RS*. Po 5 min se roztok pozoruje ve zkumavce podél svislé osy. Roztok není intenzivněji zbarven než porovnávací roztok připravený současně přidáním 1 ml *tetrajordortu'natanu draselného zásaditého RS* ke směsi 4 ml základního roztoku amonia (1 µg  $NH_4/ml$ ) 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 RSI*; 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).

“

35. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Benzathini benzylpenicillinum zní:

”

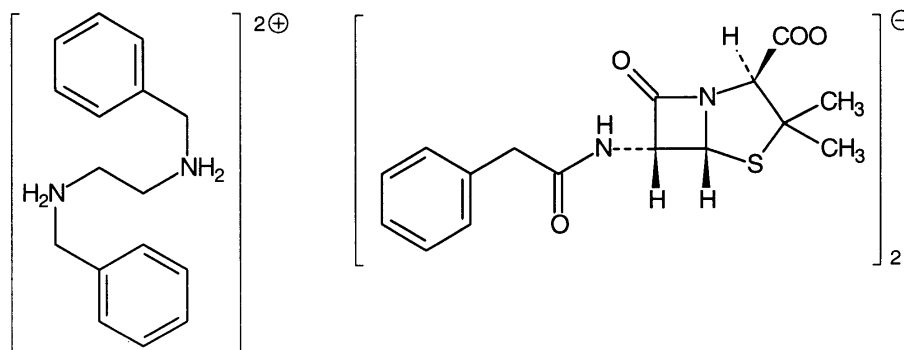
## † Benzathini benzylpenicillinum

Benzathin-benzylpenicilin

*Synonyma.* Benzylpenicillinum benzathinum, Benzylpenicillinum benzathinicum



2001



$C_{48}H_{56}N_6O_8S_2$

$M_r$  909,13

CAS 1538-09-6

Je to sůl kyseliny (2*S*,5*R*,6*R*)-6-(fenylacetamido)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-[3,2,0]heptan-2-karboxylové<sup>1)</sup> s *N,N'*-dibenzylethylendiaminem<sup>2)</sup> v poměru 2 : 1. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 96,0 % až 102,0 % benzathin-benzylpenicilinu a 24,0 % až 27,0 % *N,N'*-dibenzylethylendiaminu (benzathinu  $C_{16}H_{20}N_2$ ;  $M_r$  240,35). Látka obsahuje proměnlivé množství vody. Může být přidán stabilizátor disperze částic nebo suspenze.

### Výroba

Vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

### Vlastnosti

Bílý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dimethylformamidu a ve formamidu, těžce rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *benzathin-benzylpenicilinu* CRL.

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

<sup>1)</sup> kyseliny (2*S*,5*R*,6*R*)-6-(fenylacetamido)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylové

<sup>2)</sup> *N,N'*-dibenzylethylendiaminem



*Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí v 5 ml *methanolu R*.

*Porovnávací roztok.* 25 mg *benzathin-benzylpenicilinu CRL* se rozpustí v 5 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1  $\mu$ l obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a roztoku *octanu amonného R* (154 g/l), jehož pH bylo upraveno *amoniakem 17,5% RS* na hodnotu 7,0, (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se nechá usušit na vzduchu, vystaví se působení par jodu do vzniku skvrn a pozoruje se v denním světle. Dvě hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou, zbarvením a velikostí dvěma hlavním skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

- C. Asi 2 mg se převedou do zkumavky dlouhé asi 150 mm a o průměru 15 mm, zvlhčí se 0,05 ml *vody R* a přidají se 2 ml *formaldehydu v kyselině sírové RS*. Obsah zkumavky se promíchá krouživým pohybem; roztok je prakticky bezbarvý. Zkumavka se na 1 min vloží do vodní lázně; vzniká červenohnědé zbarvení.
- D. K 0,1 g se přidají 2 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a 2 min se protřepává. Poté se směs vytřepe dvakrát s 3 ml *etheru R*. Spojené etherové vrstvy se odpaří do sucha a odparek se rozpustí v 1 ml *lihu R 50 % (V/V)*. Přidá se 5 ml *trinitrofenolu RS*, 5 min se zahřívá při 90 °C a nechá se pomalu zchladnout. Krystaly se oddělí a překrystalují se z roztoku *trinitrofenolu R* (10 g/l) v *lihu R 25 % (V/V)*. Krystaly tají (2.2.14) při asi 214 °C.

### Zkoušky na čistotu

**Kyselý nebo zásaditě reagující látky.** K 0,50 g se přidá 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, 5 min se protřepává a zfiltruje se filtrem ze slinutého skla. K 20 ml filtrátu se přidá 0,1 ml *modři bromthymolové RS1*; roztok je zelený nebo žlutý. Ke změně zbarvení roztoku do modra se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS*.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Roztoky se připraví v čas potřeby, k rozpuštění vzorků se použije ultrazvuk (asi 2 min). Během přípravy vzorku je třeba se vyvarovat jakéhokoliv zahřívání.*

*Zkoušený roztok.* 70,0 mg se rozpustí v 25 ml *methanolu R* a zředí se roztokem obsahujícím *dihydrogenfosforečnan draselný R* (6,8 g/l) a *hydrogenfosforečnan sodný R* (1,02 g/l) na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 70,0 mg *benzathin-benzylpenicilinu CRL* se rozpustí v 25 ml *methanolu R* a zředí se roztokem obsahujícím *dihydrogenfosforečnan draselný R* (6,8 g/l) a *hydrogenfosforečnan sodný R* (1,02 g/l) na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází A na 100,0 ml.

*Kolona:*

- *rozměry:* délka (*l*) 0,25 m, vnitřní průměr (*d*) 4,0 mm;

- *stacionární fáze:* silikagel oktadecylsilanizovaný s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R (5  $\mu$ m);

- *teplota:* 40 °C.

*Mobilní fáze:*

- *mobilní fáze A,* kterou je směs objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (34 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,5, *methanolu R* a *vody R* (10 + 30 + 60);

- *mobilní fáze B,* kterou je směs objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (34 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,5, *vody R* a *methanolu R* (10 + 30 + 60).

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 10	75	25
10 - 20	75 → 0	25 → 100
20 - 55	0	100
55 - 70	75	25

*Průtoková rychlost.* 1 ml/min.

*Detekce.* Spektrofotometr, 220 nm.

*Nástržik.* Po 20 µl zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků.

*Test způsobilosti systému,* porovnávací roztok (a):

- relativní retenční časy vztahované na benzylpenicilin:
- benzathin: 0,3 až 0,4;
- nečistota C: asi 2,4.

Je-li třeba, upraví se koncentrace methanolu v mobilní fázi.

*Limity:*

- *nečistota C:* nejvýše dvojnásobek součtu ploch dvou hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %);
- *jakákoliv další nečistota:* nejvýše součet ploch dvou hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %);
- *zanedbatelnost píků:* 0,05násobek součtu ploch dvou hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %).

**Voda,** semimikrostanovení (2.5.12). 5,0 % až 8,0 %; stanoví se s 0,300 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 E*). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,13 m.j. v mililitru supernatantní tekutiny připravené takto:

20 mg se suspenduje ve 20 ml roztoku hydroxidu sodného 0,1 mol/l zředěného 1 : 100, důkladně se protřepe a odstředí se.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Příbuzné látky.

*Mobilní fáze.* Směs objemových dílů *tlumivého fosforečnanového roztoku o pH 3,5, methanolu R a vody R* (10 + 35 + 55).

*Nástržik.* Po 20 µl zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a).

Vypočítá se procentuální obsah benzathinu a benzathin-benzylpenicillinu. Benzathin-benzylpenicillin se vypočítá vynásobením obsahu benzylpenicillinu číslem 1,36.

## Uchovávání

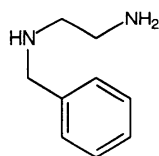
Ve vzduchotěsných obalech. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech. Separandum.

## Označování

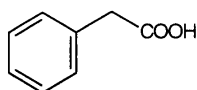
V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné:

- název a množství eventuálně přidaného stabilizátoru částic nebo suspenze,
- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

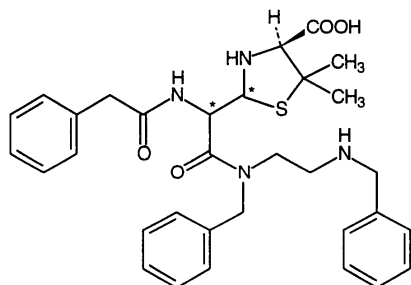
## Nečistoty



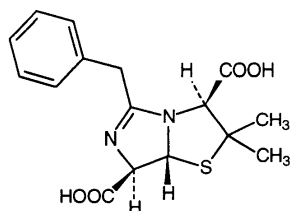
A. monobenzylethylenediamin,



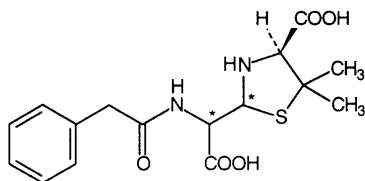
B. kyselina fenylactová,



C. kyselina (4*S*)-2-[(fenylacetamido)-{[(*N*-benzyl-*N*-benzylaminoethyl)amino]karbonyl}methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová<sup>2)</sup> (kyselina benzathin-benzylpenicilínová),

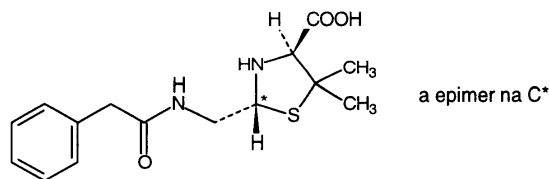


D. kyselina (3*S*,7*R*,7*aR*)-5-benzyl-2,2-dimethyl-2,3,7,7*a*-tetrahydroimidazo[5,1-*b*]thiazol-3,7-dikarboxylová (penilová kyselina benzylpenicilínu),



E. kyselina (4*S*)-2-[karboxy(fenylacetamido)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilínové kyseliny benzylpenicilínu),

<sup>2)</sup> kyselina (4*S*)-2-[(fenylacetamido)-{[(*N*-benzyl-*N*-benzylaminoethyl)amino]karbonyl}methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová



F. kyselina (2*RS*,4*S*)-2-[(fenylacetamido)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (peniloové kyseliny benzylpenicilinu).

“

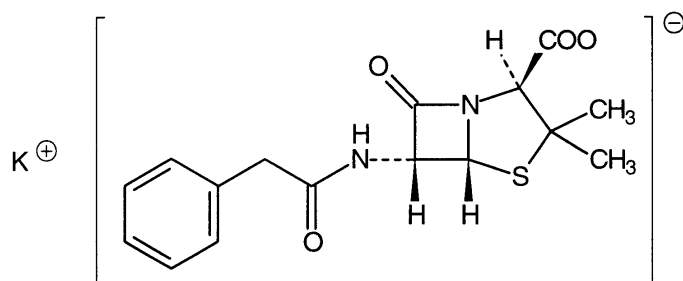
36. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Benzylpenicillinum kalicum a Benzylpenicillinum natricum znějí:

”

## † Benzylpenicillinum kalicum

Draselná sůl benzylpenicilinu

*Synonymum.* Penicillinum G kalicum



$C_{16}H_{17}KN_2O_4S$

$M_r$  372,48

CAS 113-98-4

Je to kalium-(2*S*,5*R*,6*R*)-6-(fenylacetamido)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylát<sup>1)</sup>, který je produkován při růstu určitých kmenů *Penicillium notatum* nebo příbuzných organismů a nebo se získává jinými způsoby. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 96,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$ .

### Výroba

Vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

<sup>1)</sup> kalium-(2*S*,5*R*,6*R*)-6-(fenylacetamido)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylát

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustná ve vodě, prakticky nerozpustná v mastných olejích a v tekutém parafinu.

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *draselné soli benzylpenicilinu CRL*.

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

*Zkoušený roztok*. 25 mg se rozpustí v 5 ml *vody R*.

*Porovnávací roztok (a)*. 25 mg *draselné soli benzylpenicilinu CRL* se rozpustí v 5 ml *vody R*.

*Porovnávací roztok (b)*. 25 mg *draselné soli benzylpenicilinu CRL* a 25 mg *draselné soli fenoxymethylpenicilinu CRL* se rozpustí v 5 ml *vody R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a roztoku *octanu amonného R* (154 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou ledovou R* na hodnotu 5,0, (30 + 70) po drážce 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, vystaví se působení par jodu do vzniku skvrn a pozoruje se na 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 zkoušené látky se převedou do zkumavky dlouhé asi 150 mm a o průměru 15 mm, zvlhčí se 0,05 ml *vody R* a přidají se 2 ml *formaldehydu v kyselině sírové RS*. Obsah zkumavky se promíchá krouživým pohybem; roztok je prakticky bezbarvý. Zkumavka se na 1 min vloží do vodní lázně; vzniká červenohnědé zbarvení.

D. Vyhovuje zkoušce (a) na draslík (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,5 až 7,5; 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). +270° až +300°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,500 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Absorbance** (2.2.25). 94,0 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml. Absorbance tohoto roztoku se měří při 325 nm, 280 nm a v maximu při 264 nm; v případě potřeby se pro měření při 264 nm roztok zředí. Absorbance při 325 nm a 280 nm není vyšší než 0,10 a absorbance v maximu při 264 nm je 0,80 až 0,88, počítáno na neředěný roztok (1,88 g/l). Ověří se rozlišovací schopnost přístroje (2.2.25); poměr absorbancí je nejméně 1,7.

**Příbuzné látky**. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) postupem uvedeným ve Stanovení obsahu. Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (d) a eluuje se izokraticky zvolenou mobilní fází. Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku (b) a začne se eluovat izokraticky. Ihned po eluci píku benzylpenicilinu se použije následující lineární gradient.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 20	70 → 0	30 → 100	lineární gradient
20 - 35	0	100	izokraticky
35 - 50	70	30	ustalování

Nastříkne se *voda R* a použije se stejný eluční postup k provedení slepé zkoušky. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (1,0 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší 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, Metoda E). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,16 m.j. endotoxinu v miligramu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok (a)*. 50,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml.

*Zkoušený roztok (b)*. Připraví se těsně před použitím. 80,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (a)*. 50,0 mg sodné soli benzylpenicilinu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b)*. 10 mg sodné soli benzylpenicilinu CRL a 10 mg kyseliny fenyloctové CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (c)*. 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (d)*. 4,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 100,0 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, kterou je směs objemových dílů roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného R (68 g/l), jehož pH bylo upraveno roztokem kyseliny fosforečné R (500 g/l) na hodnotu 3,5, methanolu R a vody R (10 + 30 + 60),
  - mobilní fáze B, kterou je směs objemových dílů roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného R (68 g/l), jehož pH bylo upraveno roztokem kyseliny fosforečné R (500 g/l) na hodnotu 3,5, methanolu R a vody R (10 + 50 + 40),
- spektrofotometrického detektoru, 225 nm.

Kolona se ustaluje mobilní fází, v níž poměr fází A : B je 70 : 30. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení na chromatogramu mezi dvěma hlavními píky je nejméně 6,0, upraví se poměr mobilní fáze A k mobilní fázi B. Kapacitní faktor pro druhý pík (benzylpenicilin) je 4,0 až 6,0. Nastříkne se 20 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 %. Nastříkne se střídavě zkoušený roztok (a) a porovnávací roztok (a).

Vypočítá se obsah draselné soli benzylpenicilinu násobením procentuálního obsahu sodné soli benzylpenicilinu číslem 1,045.

## Uchovávání

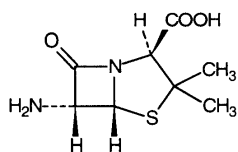
Ve vzduchotěsných obalech. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech. Separandum.

## Označování

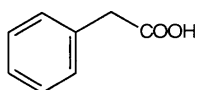
V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

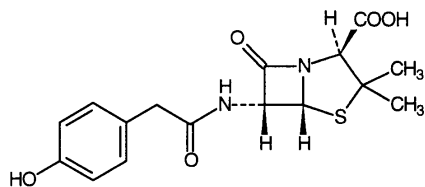
## Nečistoty



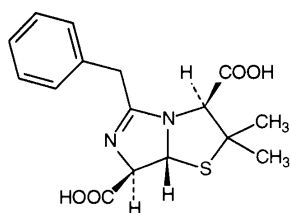
A. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová<sup>2)</sup> (kyselina 6-aminopenicilanová),



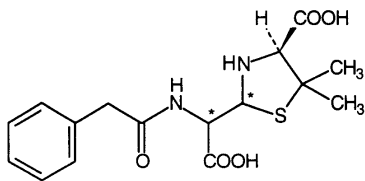
B. kyselina fenyloctová,



C. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová<sup>3)</sup>,



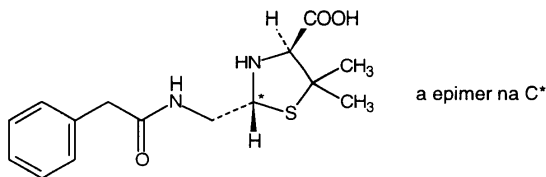
D. kyselina (3*S*,7*R*,7*aR*)-5-benzyl-2,2-dimethyl-2,3,7,7*a*-tetrahydroimidazo[5,1-*b*]thiazol-3,7-dikarboxylová (penilová kyselina benzylpenicilinu),



E. kyselina (4*S*)-2-[karboxy(fenylacetamido)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilloové kyseliny benzylpenicilinu),

<sup>2)</sup> kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová

<sup>3)</sup> kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová



F. kyselina (2*RS*,4*S*)-2-[(fenylacetamido)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (peniloové kyseliny benzylpenicilinu).

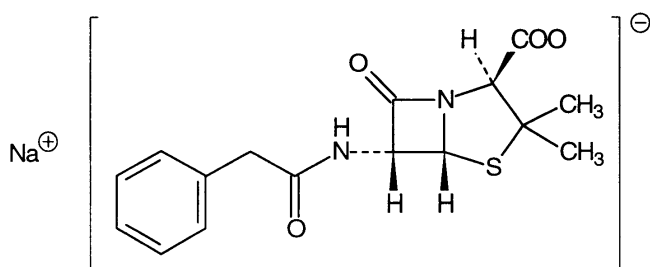
## † Benzylpenicillinum natricum

Sodná sůl benzylpenicilinu

*Synonymum.* Penicillinum G natricum



2001



$C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$

$M_r$  356,37

CAS 69-57-8

Je to natrium-(2*S*,5*R*,6*R*)-6-(fenylacetamido)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo [3,2,0]heptan-2-karboxylát<sup>1)</sup>, který je produkován při růstu určitých kmenů *Penicillium notatum* nebo příbuzných organismů a nebo se získává jinými způsoby. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 96,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$ .

### Výroba

Vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Jestliže se připravuje postupem, který zanechává zbytky kyseliny 2-ethylhexanové v látce, vyhovuje následující zkoušce:

**Kyselina 2-ethylhexanová (2.4.28).** Nejvýše 0,5 %.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustná ve vodě, prakticky nerozpustná v mastných olejích a v tekutém parafinu.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek: A a D.*

*Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).*

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *sodné soli benzylpenicilinu CRL*.

<sup>1)</sup> natrium-(2*S*,5*R*,6*R*)-6-(fenylacetamido)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3.2.0]heptan-2-karboxylát



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

*Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí v 5 ml vody R.

*Porovnávací roztok (a).* 25 mg sodné soli benzylpenicilinu CRL se rozpustí v 5 ml vody R.

*Porovnávací roztok (b).* 25 mg sodné soli benzylpenicilinu CRL a 25 mg draselné soli fenoxymethylpenicilinu CRL se rozpustí v 5 ml vody R.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů acetonu R a roztoku octanu amonného R (154 g/l), jehož pH bylo upraveno kyselinou octovou ledovou R na hodnotu 5,0, (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, vystaví se působení par jodu do vzniku skvrn a pozoruje se na 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 dlouhé asi 150 mm a o průměru 15 mm, zvlhčí se 0,05 ml vody R a přidají se 2 ml formaldehydu v kyselině sírové RS. Obsah zkumavky se promíchá krouživým pohybem; roztok je prakticky bezbarvý. Zkumavka se na 1 min vloží do vodní lázně; vzniká červenohnědé zbarvení.

**D.** Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,5 až 7,5; 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). +285° až +310°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,500 g ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Absorbance** (2.2.25). 90,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml. Absorbance tohoto roztoku se měří při 325 nm, 280 nm a v maximu při 264 nm; v případě potřeby se pro měření při 264 nm roztok zředí. Absorbance při 325 nm a 280 nm není vyšší než 0,10 a absorbance v maximu při 264 nm je 0,80 až 0,88, počítáno na neředěný roztok (1,80 g/l). Ověří se rozlišovací schopnost přístroje (2.2.25); poměr absorbancí je nejméně 1,7.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) postupem uvedeným ve Stanovení obsahu. Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (d) a eluuje se izokraticky zvolenou mobilní fází. Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku (b) a začne se eluovat izokraticky. Ihned po eluci píku benzylpenicilinu se použije následující lineární gradient.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 20	70 → 0	30 → 100	lineární gradient
20 - 35	0	100	izokraticky
35 - 50	70	30	ustalování

Nastříkne se voda R a použije se stejný eluční postup k provedení slepé zkoušky. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (1 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší 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, Metoda E). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,16 m.j. endotoxinu v miligramu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok (a).* 50,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* Připraví se těsně před použitím. 80,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50,0 mg sodné soli benzylpenicilinu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg sodné soli benzylpenicilinu CRL a 10 mg kyseliny fenylactové CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 4,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 100,0 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, kterou je směs objemových dílů roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného R (68 g/l), jehož pH bylo upraveno roztokem kyseliny fosforečné R (500 g/l) na hodnotu 3,5, methanolu R a vody R (10 + 30 + 60),
  - mobilní fáze B, kterou je směs objemových dílů roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného R (68 g/l), jehož pH bylo upraveno roztokem kyseliny fosforečné R (500 g/l) na hodnotu 3,5, vody R a methanolu R (10 + 40 + 50),
- spektrofotometrického detektoru, 225 nm.

Kolona se ustaluje mobilní fází, v níž poměr fází A : B je 70 : 30. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi dvěma hlavními píky je nejméně 6,0 (je-li třeba, upraví se poměr mobilní fáze A k mobilní fázi B). Kapacitní faktor pro druhý pík (benzylpenicilin) je 4,0 až 6,0. Nastříkne se 20 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 %. Nastříkne se střídavě zkoušený roztok (a) a porovnávací roztok (a).

## Uchovávání

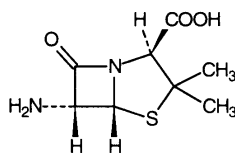
Ve vzduchotěsných obalech. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech. Separandum.

## Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, zda je látka:

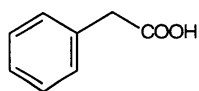
- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

## Nečistoty

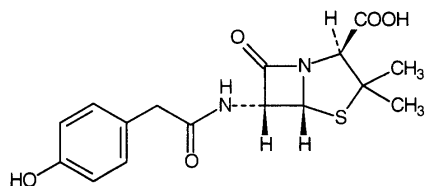


A. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3,2,0]heptan-2-karboxylová<sup>2)</sup> (kyselina 6-aminopenicilanová),

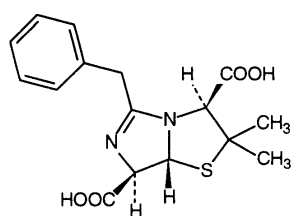
<sup>2)</sup> kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3,2,0]heptan-2-karboxylová



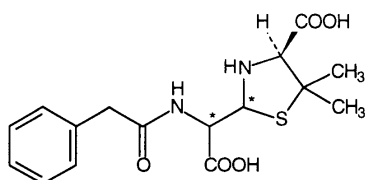
B. kyselina fenylactová,



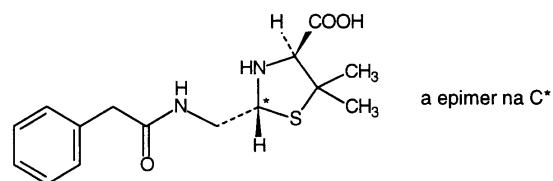
C. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová<sup>3)</sup>,



D. kyselina (3*S*,7*R*,7*aR*)-5-benzyl-2,2-dimethyl-2,3,7,7*a*-tetrahydroimidazo[5,1-*b*]thiazol-3,7-dikarboxylová (penilová kyselina benzylpenicilinu),



E. kyselina (4*S*)-2-[karboxy(fenylacetamido)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilové kyseliny benzylpenicilinu),



F. kyselina (2*R**S*,4*S*)-2-[(fenylacetamido)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilové kyseliny benzylpenicilinu).

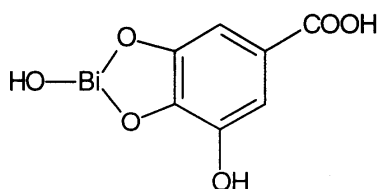
<sup>3)</sup> kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-[3.2.0]heptan-2-karboxylová

37. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Bismuthi subcarbonas doplňují články Bismuthi subgallas, Bismuthi subnitras ponderosus a Bismuthi subsalicylas, které znějí:

”

## Bismuthi subgallas

Zásaditý gallan bismutitý

 $C_7H_5BiO_6$  $M_r$  394,09

CAS 99-26-3

Je to kyselina 2,4-dihydroxy-1,3-dioxa-2-bismaindan-6-karboxylová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 48,0 % až 51,0 % Bi ( $A_r$  208,98).

### Vlastnosti

Žlutý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%. Rozpouští se za rozkladu v minerálních kyselinách a v roztocích alkalických hydroxidů za vzniku červenohnědé tekutiny.

### Zkoušky totožnosti

- A.** 0,1 g se smíchá s 5 ml vody *R* a 0,1 ml kyseliny fosforečné *R*, zahřeje se k varu, 2 min se udržuje ve varu, pak se ochladí a zfiltruje. K filtrátu se přidá 1,5 ml chloridu železitého *RS1*; vzniká černomodré zbarvení.
- B.** Vyhovuje zkoušce (b) na bismut (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1,00 g se naváží do 20ml odměrné baňky a přidají se 2,0 ml kyseliny dusičné prosté olova *R*. Po dobu rozpouštění se směs nezahřívá, je-li třeba, mírně se zahřeje ke konci procesu do úplného rozpuštění zkoušené látky. Přidá se 10 ml vody *R*, protřepe se a po malých částech se přidá 4,5 ml amoniaku prostého olova *R*, protřepe se a ochladí se. Potom se zředí vodou *R* na 20,0 ml, opět se protřepe a nechá se usadit. Čirá supernatantní tekutina je roztok S.

**Kysele reagující látky.** 1,0 g se třepe 1 min s 20 ml vody *R* a zfiltruje se. K filtrátu se přidá 0,1 ml červeně methylové *RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na žluté se spotřebuje nejvýše 0,15 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l *VS* (0,25 %).

**Chloridy (2.4.4).** K 0,5 g se přidá 10 ml kyseliny dusičné zředěné *RS*, zahřeje se 5 min na vodní lázni a zfiltruje. 5 ml filtrátu se zředí vodou *R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 µg/g).

**Dusičnany.** K 1,0 g se přidá 25 ml vody *R*, 25 ml směsi objemových dílů kyseliny sírové *R* a vody *R* (2 + 9), zahřívá se 1 min při asi 50 °C za míchání a zfiltruje se. K 10 ml filtrátu se opatrně přidá 30 ml kyseliny sírové *R*. Roztok není intenzivněji hnědožlutě zbarven než porovnávací roztok připravený současně takto: k 0,4 g kyseliny gallové *R* se přidá 20 ml základního roztoku dusičnanů (100 µg  $NO_3$ /ml), 30 ml směsi objemových dílů kyseliny sírové *R* a vody *R* (2 + 9) a zfiltruje se. K 10 ml filtrátu se opatrně přidá 30 ml kyseliny sírové *R* (0,2 %).

**Měď.** Nejvýše 50 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* Roztok S.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku mědi (10 µg Cu/ml) zředěním roztokem kyseliny dusičné prosté olova R (37 %) (V/V).

Měří se absorbance při 324,7 nm za použití měděné 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 II).

*Zkoušený roztok.* Roztok S.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku olova (10 µg Pb/ml) zředěním roztokem kyseliny dusičné prosté olova R (37 %) (V/V).

Měří se absorbance při 283,3 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Podle použitého přístroje lze absorbanci měřit při 217,0 nm.

**Stříbro.** Nejvýše 25 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* Roztok S.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku stříbra (5 µg Ag/ml) zředěním roztokem kyseliny dusičné prosté olova R (37 %) (V/V).

Měří se absorbance při 328,1 nm za použití stříbrné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Látky nesrážené amoniakem.** 2,0 g se v porcelánové nebo křemenné misce žihají při velmi pozvolně se zvyšující teplotě a potom se ochladí. Zbytek se zvlhčí 2 ml kyseliny dusičné R, odpaří se na vodní lázni do sucha, opatrně se zahřeje a ještě jednou žihá. Po ochlazení se zbytek rozpustí v 5 ml kyseliny dusičné R a zředí se vodou R na 20 ml. K 10 ml tohoto roztoku se přidá amoniak 26 % R do alkalické reakce a zfiltruje se. Zbytek se promyje vodou R, spojené filtráty se odpaří na vodní lázni do sucha, přidá se 0,3 ml kyseliny sírové zředěné RS a vyžihá se. Zbytek po žihání váží nejvýše 10 mg (1,0 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 7,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

## Stanovení obsahu

K 0,300 g se přidá 10 ml směsi stejných objemových dílů kyseliny dusičné R a vody R, zahřeje se k varu a 2 min se udržuje ve varu. Potom se přidá 0,1 g chlorečnanu draselného R, zahřeje se k varu a 1 min se udržuje ve varu. Přidá se 10 ml vody R a zahřívá se do odbarvení roztoku. K horkému roztoku se přidá 200 ml vody R a 50 mg oranže xylenolové s dusičnanem draselným R a titruje se edetanem disodným 0,1 mol/VS do žlutého zbarvení.

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/VS odpovídá 20,90 mg Bi.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.

---

# Bismuthi subnitras ponderosus

Těžký zásaditý dusičnan bismutitý



2001

4[BiNO<sub>3</sub>(OH)<sub>2</sub>], BiO(OH)

*M<sub>r</sub>* 1462

CAS 1304-85-4

Je to směs dusičnan-oxidů a dusičnan-hydroxidů bismutitých.

Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 71,0 % až 74,0 % Bi (*A<sub>r</sub>* 208,98).

## Vlastnosti

Bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%. Rozpouští se za rozkladu v minerálních kyselinách.

## Zkoušky totožnosti

- A. 1 ml roztoku S1, viz Zkoušky na čistotu, se zředí vodou R na 5 ml a přidá se 0,3 ml jodidu draselného RS; vzniká černá sraženina, která se přidáním 2 ml jodidu draselného RS rozpustí na oranžový roztok.
- B. Vyhovuje zkoušce (b) na bismut (2.3.1).
- C. Vyhovuje zkoušce na dusičnany (2.3.1).
- D. Hodnota pH (2.2.3) roztoku S2 (viz Zkoušky na čistotu) není vyšší než 2,0.

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S1.** 5,0 g se protřepe za mírného zahřátí s 10 ml vody R, přidá se 20 ml kyseliny dusičné R, zahřívá se do rozpuštění, ochladí se a zředí se vodou R na 100 ml.

**Roztok S2.** 1,00 g se naváží do 20ml odměrné baňky a přidají se 2,0 ml kyseliny dusičné prosté olova R. Po dobu rozpouštění se směs nezahřívá, je-li třeba, mírně se zahřeje ke konci procesu do úplného rozpuštění zkoušené látky. Přidá se 10 ml vody R, protřepe se a po malých dávkách se přidá 4,5 ml amoniaku prostého olova R, protřepe se a ochladí se. Potom se zředí vodou R na 20,0 ml, opět se protřepe a nechá se usadit. Čirá supernatantní tekutina je roztok S2.

**Kysele reagující látky.** 1,0 g se suspenduje v 15 ml vody R, několikrát se protřepe, potom se nechá 5 min stát a zfiltruje se. K 10 ml filtrátu se přidá 0,5 ml fenolftaleinu RS1. Ke změně zbarvení indikátoru na růžové se spotřebuje nejvýše 0,5 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS.

**Chloridy (2.4.4).** K 5,0 ml roztoku S1 se přidají 3 ml kyseliny dusičné R a zředí se vodou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 µg/g).

**Měď.** Nejvýše 50 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* Roztok S2.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku mědi (10 µg Cu/ml) zředěním roztokem kyseliny dusičné prosté olova R (37 %) (V/V).

Měří se absorbance při 324,7 nm za použití měděné 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 II).

*Zkoušený roztok.* Roztok S2.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití vhodných množství základního roztoku olova (10 µg Pb/ml) zředěním roztokem kyseliny dusičné prosté olova R (37 %) (V/V).

Měří se absorbance při 283,3 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Podle použitého přístroje lze absorbanci měřit při 217,0 nm.

**Stříbro.** Nejvýše 25 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* Roztok S2.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku stříbra (5 µg Ag/ml) zředěním roztokem kyseliny dusičné prosté olova R (37 %) (V/V).

Měří se absorbance při 328,1 nm za použití stříbrné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Látky nesrážené amoniakem.** K 20 ml roztoku S1 se přidá amoniak 26 % R do alkalické reakce a zfiltruje se. Zbytek se promyje vodou R, spojené filtráty se odpaří na vodní lázni do sucha, přidá se 0,3 ml kyseliny sírové zředěné RS a vyžihá se. Zbytek po žihání váží nejvýše 10 mg (1,0 %).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 3,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

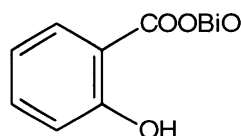
### Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí zahřátím v 10 ml směsi objemových dílů *kyseliny chloristé R* a *vody R* (2 + 5), k horkému roztoku se přidá 200 ml *vody R* a 50 mg *oranže xylenolové s dusičnanem draselným R*. Titruje se *edetanem disodným 0,1 mol/l VS* do žlutého zbarvení.

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,90 mg Bi.

## Bismuthi subsalicylas

Zásaditý salicylan bismutitý



$C_7H_5BiO_4$

$M_r$  362,09

CAS 14882-18-9

Je to (2-hydroxybenzoato- $O^1$ )-oxobismut<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 57,0 % až 60,0 % Bi ( $A_r$  208,98).

### Vlastnosti

Bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%. Rozpouští se za rozkladu v minerálních kyselinách.

### Zkoušky totožnosti

- A. K 0,5 g se přidá 10 ml *kyseliny chlorovodíkové RS1* a 5 min se zahřívá na vroucí vodní lázni, potom se ochladí a zfiltruje. Filtrát se použije ke zkoušce totožnosti B. Zbytek na filtru se promyje *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* a potom *vodou R*. Zbytek se rozpustí v 0,5 ml až 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, přidá se 15 ml *vody R* a zneutralizuje se *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS*. Tento roztok vyhovuje zkoušce (a) na salicylany (2.3.1).
- B. Filtrát ze zkoušky totožnosti A vyhovuje zkoušce (b) na bismut (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1,00 g se naváží do 20ml odměrné baňky a přidají se 2,0 ml *kyseliny dusičné prosté olova R*. Po dobu rozpouštění se směs nezahřívá, je-li třeba, mírně se zahřeje ke konci procesu do úplného rozpouštění zkoušené látky. Přidá se 10 ml *vody R*, protřepe se a po malých částech se přidá 4,5 ml *amoniaku prostého olova R*, protřepe se a ochladí. Potom se zředí *vodou R* na 20,0 ml, opět se protřepe a nechá se usadit. Čirá supernatantní tekutina je roztok S.

**Kysele reagující látky.** 2,0 g se třepou 1 min s 30 ml *etheru R* a zfiltrují se. K filtrátu se přidá 30 ml *lihu 96% R* a 0,1 ml *modři thymolové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 0,35 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* (0,25 %).

**Chloridy** (2.4.4). 0,250 g se rozpustí ve směsi 2 ml *kyseliny dusičné R*, 5 ml *vody R* a 8 ml *methanolu R*. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200  $\mu\text{g/g}$ ).

<sup>1)</sup> (2-hydroxybenzoato- $O^1$ )-oxobismut

**Dusičnany.** K 0,1 g se přidá 10 ml *vody R* a opatrně 20 ml *kyseliny sírové R* a promíchá se. Tento roztok není intenzivněji žlutě zbarven než porovnávací roztok připravený současně za použití 0,1 g *kyseliny salicylové R*, 6 ml *vody R*, 4 ml základního roztoku *dusičnanů (100 µg NO<sub>3</sub>/ml)* a 20 ml *kyseliny sírové R (0,4 %)*.

**Měď.** Nejvýše 50 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* Roztok S.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku *mědi (10 µg Cu/ml)* a zředěním roztokem *kyseliny dusičné prosté olova R (37 %) (V/V)*.

Měří se absorbance při 324,7 nm za použití měděné 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 II*).

*Zkoušený roztok.* Roztok S.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)* a zředěním roztokem *kyseliny dusičné prosté olova R (37 %) (V/V)*.

Měří se absorbance při 283,3 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Podle použitého přístroje lze absorbanci měřit při 217,0 nm.

**Stříbro.** Nejvýše 25 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* Roztok S.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku *stříbra (5 µg Ag/ml)* a zředěním roztokem *kyseliny dusičné prosté olova R (37 %) (V/V)*.

Měří se absorbance při 328,1 nm za použití stříbrné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Rozpustný bismut.** Nejvýše 40 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 5,0 g se suspenduje ve 100 ml *vody R*, 2 h se rovnoměrně míchá při teplotě 20 °C až 23 °C, potom se zfiltruje nejprve přes hustý papírový filtr a pak přes membránový celulósový filtr s póry 0,1 µm. K 10,0 ml čirého filtrátu se přidá 0,1 ml *kyseliny dusičné R*.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku *bismutu (100 µg Bi/ml)* a zředěním směsí stejných objemových dílů *kyseliny dusičné zředěné RS* a *vody R*.

Měří se absorbance při 223,06 nm za použití bismutové 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

0,300 g se rozpustí zahřátím v 10 ml směsi objemových dílů *kyseliny chloristé R* a *vody R (2 + 5)*, k horkému roztoku se přidá 200 ml *vody R* a 50 mg *oranže xylenolové s dusičnanem draselným R*. Titruje se *edetanem disodným 0,1 mol/l VS* do žlutého zbarvení.

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,90 mg Bi.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.



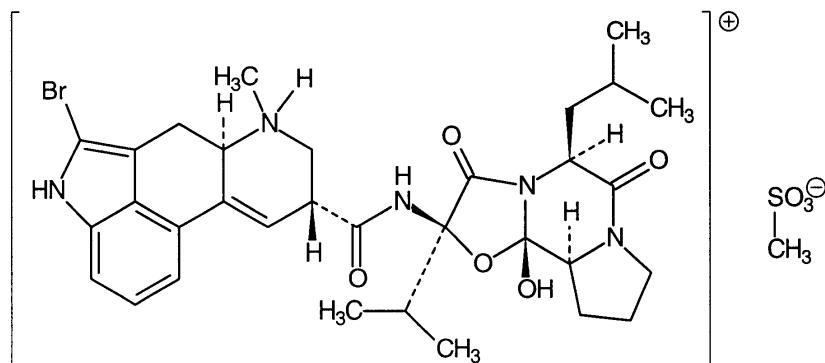
38. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Bromocriptini mesilas zní:

”

## † Bromocriptini mesilas

Bromokriptiniummesilat

2001



$C_{33}H_{44}BrN_5O_8S$

$M_r$  750,70

CAS 22260-51-1

Je to bromokriptiniummethansulfonát<sup>1)</sup>, tj. (6a*R*,9*R*)-5-brom-9-[[[(2*R*,5*S*,10a*S*,10b*S*)-10b-hydroxy-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxo-oktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]amino]karbonyl]-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-7-ium-methansulfonát<sup>2)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{33}H_{44}BrN_5O_8S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě zbarvený jemný krystalický prášek. Je velmi citlivý na světlo, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96%, mírně rozpustný v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti, zkoušky na čistotu a stanovení obsahu se provádějí co nejrychleji a za chránění před světlem.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

A. 10,0 mg se rozpustí v 10 ml methanolu *R* a zředí se kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l *RS* na 200,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 250 nm až 380 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 305 nm a minimum při 270 nm. Specifická absorbance v maximu je 120 až 135, počítáno na vysušenou látku.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru bromokriptiniummesilátu *CRL*.

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

<sup>1)</sup> bromokriptinium-methansulfonát

<sup>2)</sup> (6a*R*,9*R*)-5-brom-9-[[[(2*R*,5*S*,10a*S*,10b*S*)-10b-hydroxy-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxo-oktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]amino]karbonyl]-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-7-ium-methansulfonát

Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.

**Zkoušený roztok.** 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů lihu 96% R, methanolu R a dichlormethanu R (3 + 3 + 4) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

**Porovnávací roztok.** 10 mg bromokriptiniummesilatu CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů lihu 96% R, methanolu R a dichlormethanu R (3 + 3 + 4) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se ihned v nenasyčené komoře směsi objemových dílů amoniaku 26% R, vody R, 2-propanolu R, dichlormethanu R a etheru R (0,1 + 1,5 + 3 + 88 + 100) po dráze 15 cm. Vrstva se 2 min suší v proudu studeného vzduchu, postříká se molybdenanem amonným RS3 a zahřívá se při 100 °C do objevení skvrn (asi 10 min). Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

D. K 0,1 g se přidá 5 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS, asi 5 min se třepe, zfiltruje se a přidá se 1 ml chloridu barnatého RS1; filtrát zůstane čirý. K dalšímu 0,1 g se přidá 0,5 g uhličitanu sodného bezvodého R, promíchá se a žihá do vzniku bílého zbytku. Po vychladnutí se zbytek rozpustí v 7 ml vody R, (roztok A), uchová se také pro zkoušku E. Roztok A vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

E. Roztok A ze zkoušky D vyhovuje zkoušce (a) na bromidy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,25 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 25 ml. Tento roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H<sub>5</sub>, HŽ<sub>5</sub> nebo Ž<sub>5</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,1 až 3,8; měří se roztok připravený takto: 0,2 g se rozpustí ve směsi objemových dílů methanolu R a vody prosté oxidu uhličitého R (2 + 8) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +95° až +105°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,100 g ve směsi stejných objemových dílů methanolu R a dichlormethanu R a zředěním stejnou směsí na 10,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 0,500 g se rozpustí v 5,0 ml methanolu R a zředí se tlumivým roztokem o pH 2,0 na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů tlumivého roztoku o pH 2,0 a methanolu R na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů tlumivého roztoku o pH 2,0 a methanolu R na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 5,0 mg bromokriptinu nečistoty A CRL se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů tlumivého roztoku o pH 2,0 a methanolu R a zředí se stejnou směsí na 5,0 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 5,0 mg bromokriptinu nečistoty B CRL se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů tlumivého roztoku o pH 2,0 a methanolu R a zředí se stejnou směsí na 5,0 ml.

**Porovnávací roztok (e).** 0,5 ml porovnávacího roztoku (c) se smíchá s 0,5 ml porovnávacího roztoku (d) a zředí směsí stejných objemových dílů tlumivého roztoku o pH 2,0 a methanolu R na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (f).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí směsí stejných objemových dílů tlumivého roztoku o pH 2,0 a methanolu R na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,12 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 2 ml/min:
  - mobilní fáze A - roztok uhličitanu amonného R (0,791 g/l),
  - mobilní fáze B - acetonitril R,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 30	90 → 40	10 → 60	lineární gradient
30 - 45	40	60	izokraticky

- spektrofotometrického detektoru, 300 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (e). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky dvou píků byly asi 20 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistoty A a nečistoty B je nejméně 1,1.

Nastříkne se po 20 µl všech ostatních roztoků. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídající nečistotě A větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (0,02 %), plocha píku odpovídající nečistotě C, s relativním retenčním časem asi 1,2, není větší než čtyřnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,4 %), plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty C, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a nejvýše jeden takový pík má plochu větší než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); 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, kromě píku nečistoty A, jejichž plocha je menší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 3,0 %; 0,500 g se 5 h suší ve vakuu při 80 °C.

### Stanovení obsahu

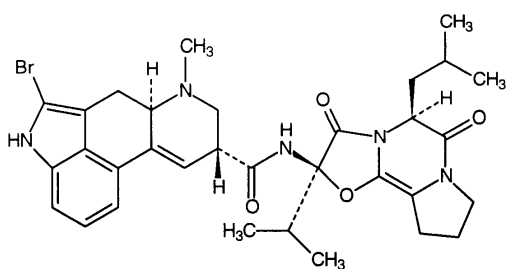
0,500 g se rozpustí v 80 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* a *acetanhydridu R* (10 + 70) a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 75,1 mg  $C_{33}H_{44}BrN_5O_8S$ .

### Uchovávání

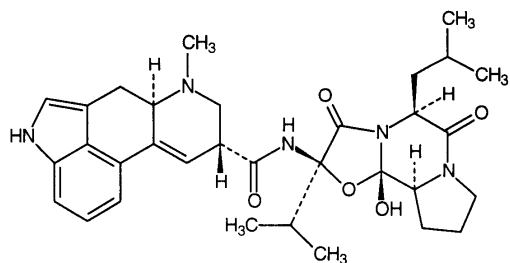
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě nepřevyšující -15 °C.  
Separandum.

### Nečistoty

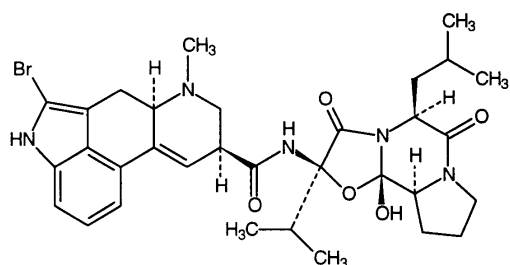


A. (6a*R*,9*R*)-5-brom-*N*-[(2*R*,5*S*)-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxo-2,3,5,6,9,10-hexahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid<sup>3)</sup> (2-bromdehydro- $\alpha$ -ergokriptin),

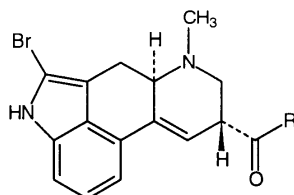
<sup>3)</sup> (6a*R*,9*R*)-5-brom-*N*-[(2*R*,5*S*)-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxo-2,3,5,6,9,10-hexahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid



B. (6aR,9R)-N-[(2R,5S,10aS,10bS)-10b-hydroxy-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxo-oktahydro-8H-oxazolo[3,2-a]pyrrolo[2,1-c]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-fg]chinolin-9-karboxamid<sup>4)</sup> (α-ergokriptin),

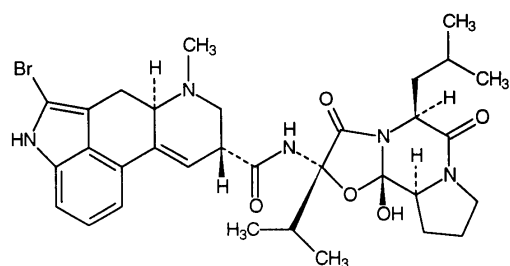


C. (6aR,9S)-5-brom-N-[(2R,5S,10aS,10bS)-10b-hydroxy-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxo-oktahydro-8H-oxazolo[3,2-a]pyrrolo[2,1-c]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-fg]chinolin-9-karboxamid<sup>5)</sup> ((9S)-2-brom-α-ergokriptin),



D. R = OH: kyselina (6aR,9R)-5-brom-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-fg]chinolin-9-karboxylová,

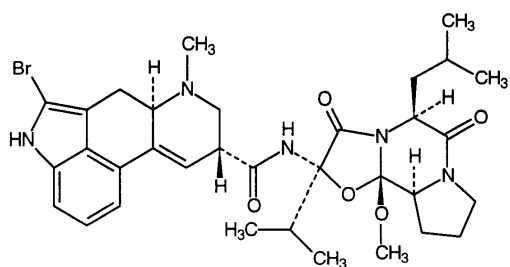
E. R = NH<sub>2</sub>: (6aR,9R)-5-brom-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-fg]chinolin-9-karboxamid,



F. (6aR,9R)-5-brom-N-[(2S,5S,10aS,10bS)-10b-hydroxy-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxo-oktahydro-8H-oxazolo[3,2-a]pyrrolo[2,1-c]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-fg]chinolin-9-karboxamid<sup>6)</sup> ((2'S)-2-brom-α-ergokriptin),

<sup>4)</sup> (6aR,9R)-N-[(2R,5S,10aS,10bS)-10b-hydroxy-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxo-oktahydro-8H-oxazolo[3,2-a]pyrrolo[2,1-c]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-fg]chinolin-9-karboxamid

<sup>5)</sup> (6aR,9S)-5-brom-N-[(2R,5S,10aS,10bS)-10b-hydroxy-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxo-oktahydro-8H-oxazolo[3,2-a]pyrrolo[2,1-c]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-fg]chinolin-9-karboxamid



G. (6*aR*,9*R*)-5-brom-*N*-[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-5-isobutyl-2-isopropyl-10*b*-methoxy-3,6-dioxo-oktahydro-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<sup>7)</sup> (2-brom-10'*b*-*O*-methyl- $\alpha$ -ergokriptin<sup>8)</sup>).

“

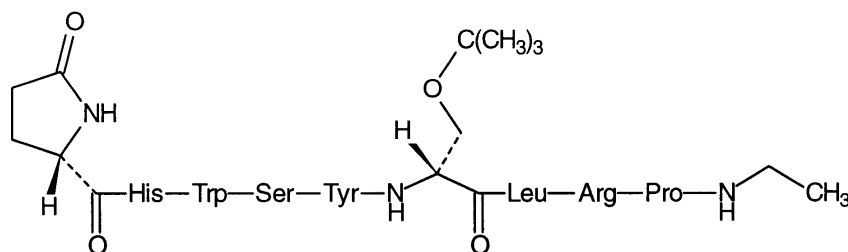
39. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Buserelinum zní:

”

## † Buserelinum

Buserelin

2001 



$C_{60}H_{86}N_{16}O_{13}$

$M_r$  1239,44

CAS 57982-77-1

<sup>6)</sup> (6*aR*,9*R*)-5-brom-*N*-[(2*S*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-10*b*-hydroxy-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxo-oktahydro-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

<sup>7)</sup> (6*aR*,9*R*)-5-brom-*N*-[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-5-isobutyl-2-isopropyl-10*b*-methoxy-3,6-dioxo-oktahydro-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

<sup>8)</sup> 2-brom-10'*b*-*O*-methyl- $\alpha$ -ergokriptin

Je to syntetický nonapeptid obdobný lidskému gonadotropin-uvolňujícímu hormonu GnRH s agonistickou aktivitou ke gonadorelinu. Získává se chemickou syntézou a je dostupný jako acetát. Počítáno na bezvodou a kyseliny octové prostou látku, obsahuje 95,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{60}H_{86}N_{16}O_{13}$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý hygroskopický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě a ve zředěných kyselinách.

### Zkoušky totožnosti

- A. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).
- B.  $^1H$  nukleární magnetické rezonanční spektrum (2.2.33) roztoku zkoušené látky (4 mg/ml) ve směsi objemových dílů kyseliny octové deuterované R a deuteriumoxidu R (20 + 80) kvalitativně odpovídá referenčnímu spektru buserelinu Ph.Eur.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** Roztok zkoušené látky (10 g/l) je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $Z_7$  (2.2.2, Metoda II).

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-49^\circ$  až  $-58^\circ$ , počítáno na bezvodou látku prostou kyseliny octové. Měří se roztok zkoušené látky (10 g/l).

**Specifická absorbance** (2.2.25). 10,0 mg se rozpustí ve 100,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS. Specifická absorbance v maximu při 278 nm je 49 až 56, počítáno na bezvodou látku prostou kyseliny octové.

**Aminokyseliny.** Zkouší se s použitím analyzátoru aminokyselin. Přístroj se kalibruje směsí obsahující ekvimolární množství amoniaku, glycínu 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. Pro validaci metody se používá vhodný vnitřní standard, jako je *norleucin R*.

**Zkoušený roztok.** 1,0 mg se umístí do vhodné, důkladně vymyté silnostěnné 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 ponoří do mrazicí směsi o teplotě  $-5^\circ C$ , tlak se sníží pod 133 Pa a zkumavka se utěsní. Zahřívá se 16 h při  $110^\circ C$  až  $115^\circ C$ . Ochladí se, zkumavka se otevře a obsah se přenese do 10ml baňky za použití pětkrát 0,2 ml vody R a 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 zopakuje. Zbytek se převede do tlumivého roztoku vhodného pro analyzátor aminokyselin a zředí se tlumivým roztokem na vhodný objem.

Přesně změřený vhodný objem zkoušeného roztoku se vpraví do analyzátoru aminokyselin.

Obsah každé aminokyseliny se vyjádří v molech. Relativní poměry aminokyselin se vypočítají tak, že jedna šestina součtu látkového množství molů kyseliny glutamové, histidinu, tyrosinu, leucinu, argininu a prolinu se položí rovna jedné. Hodnoty se nalézají v následujících limitech: serin 1,4 až 2,0; prolin 0,8 až 1,2; kyselina glutamová 0,9 až 1,1; leucin 0,9 až 1,1; tyrosin 0,9 až 1,1; histidin 0,9 až 1,1 a arginin 0,9 až 1,1. Ostatní aminokyseliny s výjimkou tryptofanu jsou přítomny nejvýše ve stopových množstvích.

**Příbuzné peptidy.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným v odstavci Stanovení obsahu.

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající přibližně dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Citlivost detektoru se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) byla 50 % až 70 % celého rozsahu stupnice zapisovače. Nastříkne se 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek

plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (3,0 %) a součet ploch všech takových píků, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (5,0 %). Nepřihlíží se k pikům rozpouštědla a k pikům s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %).

**Kyselina octová (2.5.34).** 3,0 % až 7,0 %.

*Zkoušený roztok.* 20,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (5 + 95) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

**Voda,** semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 4,0 %; stanoví se s 80,0 mg 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 55,5 m.j. endotoxinu v miligramu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 5,0 mg se rozpustí v 5,0 ml mobilní fáze.

*Porovnávací roztok (a).* Obsah lahvičky *D-His-buserelinu CRL* se rozpustí v mobilní fázi. Příslušný objem tohoto roztoku se zředí mobilní fází tak, aby výsledná koncentrace byla 1 mg/ml. 1,0 ml zkoušeného roztoku se přidá k 1,0 ml tohoto roztoku.

*Porovnávací roztok (b).* Obsah lahvičky *buserelinu CRL* se rozpustí v mobilní fázi. Příslušný objem tohoto roztoku se zředí mobilní fází tak, aby výsledná koncentrace byla 1,0 mg/ml.

*Porovnávací roztok (c).* 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* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí 200 ml *acetonitrilu R* a 700 ml roztoku *kyseliny fosforečné R* (11,2 g/l), pH směsi se upraví *triethylaminem R* na hodnotu 2,5; průtoková rychlost je 0,8 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *D-His-buserelinu* a *buserelinu* je nejméně 1,5.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku (b).

Obsah zkoušené látky se vypočte z ploch píků na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (b) a deklarovaného obsahu *buserelinu CRL*.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem a vlhkostí, 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:

- hmotnost peptidu v obalu,
- kde je to vhodné, zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů,
- kde je to vhodné, zda je látka sterilní.

40. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Calcifediolum monohydricum zní:

”

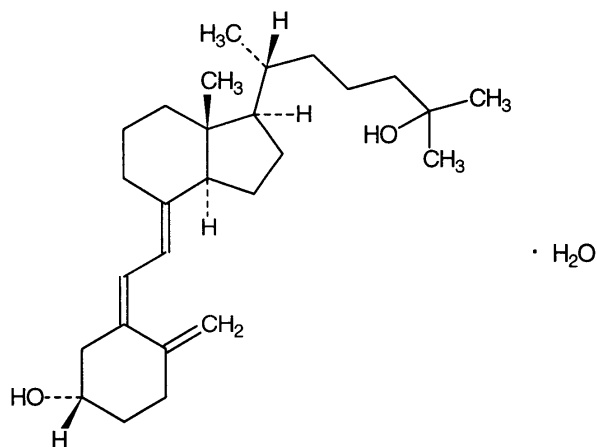
## †† Calcifediolum monohydricum

Monohydrát kalcifediolu

*Synonymum.* Calcifediolum



corr2001



$C_{27}H_{44}O_2 \cdot H_2O$

$M_r$  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 dochází k reverzibilní izomerizaci na pre-kalcifediol v závislosti na teplotě a času. Obě sloučeniny jsou účinné.

### Zkoušky totožnosti

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá referenčnímu spektru *Ph. Eur.* monohydrátu 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.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsáním 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 za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem.*

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 1,0 mg se rozpustí bez zahřívání v 10,0 ml mobilní fáze.

*Porovnávací roztok (a).* 1,0 mg monohydrátu *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 ve 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 *silikagemem oktylsilanizovaným pro chromatografii R1* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (200 + 800), s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 265 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se šestkrát po 50 μl porovnávacího roztoku (c). Pokud jsou chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, je relativní retenční čas pre-kalcifediolu vzhledem ke kalcifediolu 1,3. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka odezvy kalcifediolu je nejvýše 1 % a rozlišení mezi píky 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 píku.

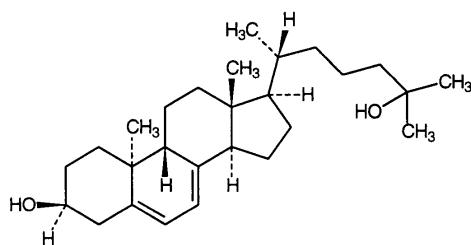
### Uchovávání

Uchovává se pod dusíkem ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

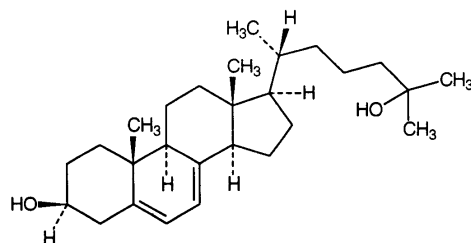
Po otevření se ihned spotřebuje.

Venenum.

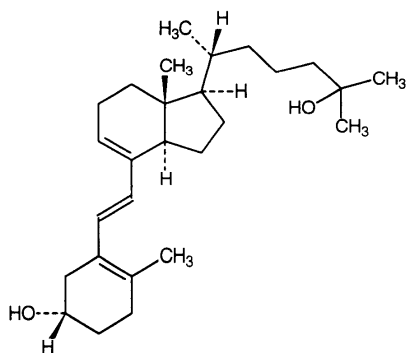
### Nečistoty



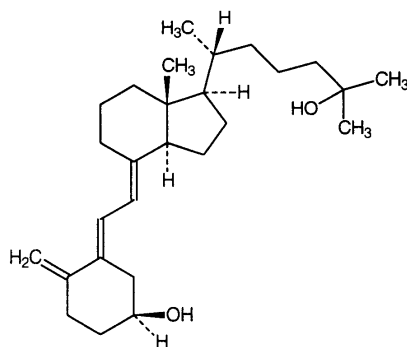
A. 9β,10α-cholesta-5,7-dien-3β,25-diol,



B. cholesta-5,7-dien-3β,25-diol,



C. (6E)-9,10-sekcholesta-5(10),6,8-trien-3β,25-diol,



D. (5E,7E)-9,10-sekcholesta-5,7,10(19)-trien-3β,25-diol.

41. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Calcii glucoheptonas zní:

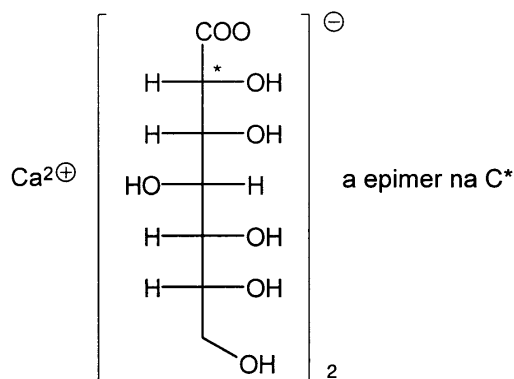
”

## Calcii glucoheptonas

Kalciumglukoheptonat



2001



$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{CaO}_{16}$

$M_r$  490,43

CAS 17140-60-2

Je to kalcium-di(2,3,4,5,6,7-hexahydroxyheptanoát)<sup>1)</sup>, který je směsí různých poměrů kalcium-di(D-glycero-D-gulo-heptonátu)<sup>2)</sup> a kalcium-di(D-glycero-D-ido-heptonátu)<sup>3)</sup>. 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 žlutý amorfni hygrokopický 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 *celulosity pro chromatografii R1*.

*Zkoušený roztok.* 20 mg se rozpustí v 1 ml *vody R*.

*Porovnávací roztok (a).* 20 mg *kalciumglukoheptonátu CRL* se rozpustí v 1 ml *vody R*.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg *kalciumglukonátu CRL* se rozpustí v 0,5 ml zkoušeného roztoku a zředí se *vodou R* na 1 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do proužků 20 mm × 2 mm po 10 μl 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 skvr-

<sup>1)</sup> kalcium-di(2,3,4,5,6,7-hexahydroxyheptanoát)

<sup>2)</sup> kalcium-di(D-glycero-D-gulo-heptonátu)

<sup>3)</sup> kalcium-di(D-glycero-D-ido-heptonátu)

ně 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 zbarven intenzivněji 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/l VS. Za stálého protřepávání se přidá 25 ml směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (6 + 94). Po rozpuštění sraženiny se nadbytek jodu titruje thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS přidaného před koncem titrace jako indikátor. Při titraci se spotřebuje nejméně 12,6 ml thiosíranu sodného 0,05 mol/l 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/l 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).

**Sírany** (2.4.13). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (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 nejvýše 167 m.j. endotoxinu v gramu.

### 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>.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné:

- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

“

42. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Calcii phosphas zní:

”

---

## Calcii phosphas

Fosforečnan vápenatý

*Synonymum.* Tricalcii phosphas

---



CAS 7758-87-4

Je to směs obsahující fosforečnany vápenaté. Obsahuje 35,0 % až 40,0 % Ca ( $A_r$  40,08).

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě. Rozpouští se ve zředěné kyselině chlorovodíkové a ve zředěné kyselině dusičné.

### Zkoušky totožnosti

- A.** 0,1 g se rozpustí v 5 ml roztoku *kyseliny dusičné R 25 % (V/V)*. Roztok vyhovuje zkoušce (b) na fosforečnany (2.3.1).
- B.** Vyhovuje zkoušce (b) na vápník (2.3.1). Před přidáním roztoku *hexakvanoželeznatanu draselného RS* se zfiltruje.
- C.** Rozmezí pro stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 2,50 g se rozpustí ve 20 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Není-li roztok čirý, zfiltruje se. Pak se přidává po kapkách *amoniak zředěný RS1*, dokud vzniká sraženina. Sraženina se rozpustí přidáním *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 50 ml.

**Chloridy** (2.4.4). 0,22 g se rozpustí ve směsi 1 ml *kyseliny dusičné R* a 10 ml *vody R* a zředí se *vodou R* na 100 ml. 15 ml roztoku vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,15 %).

**Fluoridy.** Nejvýše 75  $\mu\text{g/g}$ ; stanoví se potenciometricky za použití fluorido-selektivní indikační elektrody a argentchloridové srovnávací elektrody (2.2.36, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* V 50ml odměrné baňce se rozpustí 0,250 g v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*, přidá se 5,0 ml základního roztoku *fluoridů (1  $\mu\text{g F/ml}$ )* a zředí se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS* na 50,0 ml. K 20,0 ml tohoto

roztoku se přidá 20,0 ml *tlumivého roztoku k úpravě celkové iontové síly* a 3 ml roztoku *octanu sodného bezvodého R* (82 g/l), upraví se hodnota pH na 5,2 *amoniakem 17,5% RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 50,0 ml.

*Porovnávací roztoky*. K 5,0 ml, 2,0 ml, 1,0 ml, 0,5 ml a 0,25 ml základního roztoku *fluoridů (10 µg F/ml)* se přidá po 20,0 ml *tlumivého roztoku k úpravě celkové iontové síly* a zředí se *vodou destilovanou R* na 50,0 ml.

Měří se 20,0 ml každého roztoku. Koncentrace fluoridů se vypočítá z kalibrační křivky; v úvahu je nutno brát přidání fluoridu k roztoku zkoušené látky.

**Sírany (2.4.13).** 1 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 25 ml. 15 ml roztoku vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,5 %).

**Arsen (2.4.2).** 5 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (4 µg/g).

**Železo (2.4.9).** 0,5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 10 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (400 µg/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** 13 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (30 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (1 µg Pb/ml)*.

**Látky nerozpustné v kyselině.** 5,0 g se rozpustí ve směsi 10 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 30 ml *vody R*. Zfiltruje se, zbytek se promyje *vodou R* a suší se do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 10 mg (0,2 %).

**Ztráta žiháním.** Nejvýše 8,0 %; 1,000 g se žihá 30 min při 800 °C.

### Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí ve směsi 1 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a 5 ml *vody R*. Přidá se 25,0 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* a zředí se *vodou R* na 200 ml; pH se upraví *amoniakem 26% R* na hodnotu asi 10. Přidá se 10 ml *tlumivého roztoku s chloridem amonným o pH 10,0* a několik miligramů *černi eriochromové T s chloridem sodným R*. Nadbytek edetanu disodného se titruje *síranem zinečnatým 0,1 mol/l VS* do změny modrého zbarvení na fialové.

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 4,008 mg Ca.

### Uchovávání

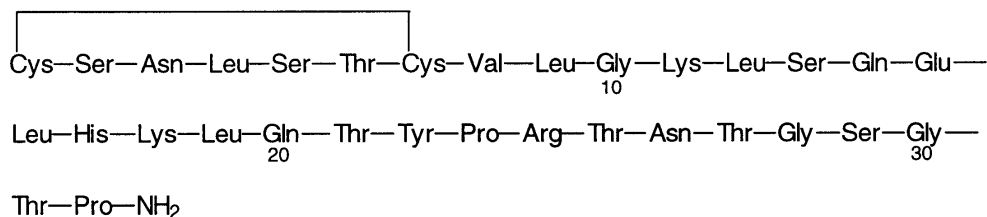
V dobře uzavřených obalech.

43. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Calcitoninum salmonis a Calcitriolum znějí:

”

## † Calcitoninum salmonis

Lososí kalcitonin



$\text{C}_{145}\text{H}_{240}\text{N}_{44}\text{O}_{48}\text{S}_2$

$M_r$  3431,88

CAS 47931-85-1

Je to syntetický polypeptid, jehož struktura odpovídá lososímu kalcitoninu I. Snižuje koncentraci vápníku v plazmě savců tím, že snižuje vyplavování vápníku z kostí. Získává se chemickou syntézou a je dostupný jako acetat. Počítáno na bezvodou a kyseliny octové prostou látku, obsahuje 90,0 % až 105,0 % peptidu  $\text{C}_{145}\text{H}_{240}\text{N}_{44}\text{O}_{48}\text{S}_2$ . Dohodou bylo stanoveno, že pro účely označování přípravků obsahujících lososí kalcitonin, 1 miligram lososího kalcitoninu ( $\text{C}_{145}\text{H}_{240}\text{N}_{44}\text{O}_{48}\text{S}_2$ ) odpovídá 6 000 m.j. biologické účinnosti.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je snadno rozpustný ve vodě.

### Zkoušky totožnosti

**A.** Provede 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  $\mu\text{l}$  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 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 vrstva postříká *škrobem s jodidem draselným RS* do zřetelného objevení skvrn. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohe, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**B.** Hodnotí se chromatogramy získané ze zkoušky Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

## Zkoušky na čistotu

**Kyselina octová** (2.5.34). 4,0 % až 15,0 %.

*Zkoušený roztok.* 10,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (5 + 95) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

**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 asparagové	alanin	tyrosin
threonin valin	fenylalanin	

společně s polovinou ekvimolárního množství L-cystinu. K validaci metody se použije vhodný vnitřní standard, např. *norleucin 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  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  a evakuuje na tlak nižší než 133 Pa. Potom se těsně uzavře a zahřívá 16 h při  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Po ochlazení se zkumavka otevře a její obsah se přenese do 10ml baňky za použití pětikrát 0,2 ml *vody R* a odpaří se do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*; zbytek se převede do *vody R* a odpaří se 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.

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 popsáným v odstavci Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  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. Nepřehlídí se k píku rozpouštědla a k pikům s plochou menší než 0,1 % plochy hlavního píku.

**Voda**, mikrostanovení (2.5.32). Nejvýše 10,0 %.

**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 odstraňující bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 1000 m.j. endotoxinu v miligramu lososího kalcitoninu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (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>kalcitoninu CRL* se rozpustí ve 400  $\mu\text{l}$  mobilní fáze A a přidá se 100  $\mu\text{l}$  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 smíchá se se 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 návrat k počátečním podmínkám
30 - 32	48 → 72	52 → 28	
32 - 55	72	28	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Teplota kolony se udržuje na 65 °C.

Kolona se ustaluje směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (28 + 72).

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 vztahený 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 : 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 dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

## Označování

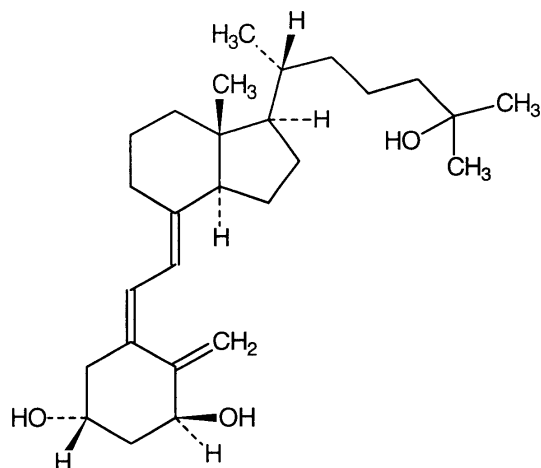
V označení na obalu se uvede:

- obsah peptidu kalcitoninu (C<sub>145</sub>H<sub>240</sub>N<sub>44</sub>O<sub>48</sub>S<sub>2</sub>),
- kde je to vhodné, zda je látka sterilní,
- kde je to vhodné, zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

†† **Calcitriolum**

Kalcitriol

2001

 $C_{27}H_{44}O_3$  $M_r$  416,64

CAS 3222-06-3

Je to (5Z,7E)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,25-triol. Obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny  $C_{27}H_{44}O_3$ .

**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 dochází k reverzibilní izomerizaci na pre-kalcitriol v závislosti na teplotě a času. Aktivita je dána oběma sloučeninám.

**Zkoušky totožnosti**

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá referenčnímu spektru Ph. Eur. kalcitriolu.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku retenčním časem a velikostí odpovídá s hlavním píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Zkoušky na čistotu**

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29), popsaná ve zkoušce Stanovení obsahu. Z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku se metodou normalizace vypočítá procentuální obsah příbuzných látek, kromě pre-kalcitriolu, které jsou eluovány po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času kalcitriolu. Obsah jednotlivých příbuzných látek je nejvýše 0,5 % a součet všech příbuzných látek je nejvýše 1,0 %; nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %).

**Stanovení obsahu**

Provede se co nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 1,000 mg se rozpustí bez zahřátí v 10,0 ml mobilní fáze.

*Porovnávací roztok (a).* 1,000 mg kalcitriolu CRL se rozpustí bez zahřátí v 10,0 ml mobilní fáze.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 2 ml porovnávacího roztoku (a) se 30 min udržují při 80 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R1* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *trometamolu R* (1,0 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 7,0 až 7,5 a *acetonitrilu R* (450 + 550); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm,
- injektorové smyčky.

Teplota kolony se udržuje při 40 °C.

Nastříkne se 50 μl porovnávacího roztoku (c) a šestkrát po 50 μl porovnávacího roztoku (a). Pokud jsou chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, je relativní retenční čas pre-kalcitriolu, vztaženo ke kalcitriolu, asi 0,9. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je počet teoretických pater počítaných pro pík kalcitriolu nejméně 10 000, relativní směrodatná odchylka plochy tohoto píku je nejvýše 1 % a rozlišení mezi píkem kalcitriolu a píkem pre-kalcitriolu je nejméně 3,5.

Nastříkne se 50 μl porovnávacího roztoku (b) a 50 μl zkoušeného roztoku a zaznamená se chromatogram po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času kalcitriolu.

Vypočítá se obsah kalcitriolu v procentech.

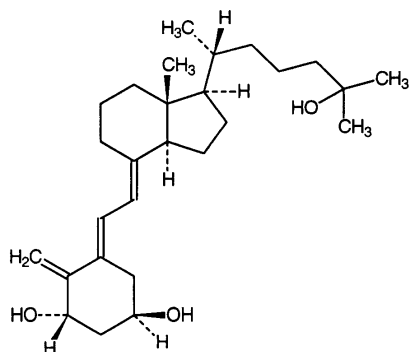
## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, pod dusíkem, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

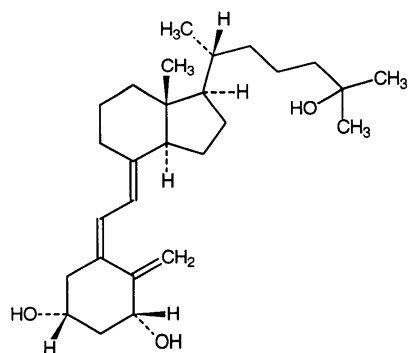
Obsah otevřeného obalu se ihned spotřebuje.

Venenum.

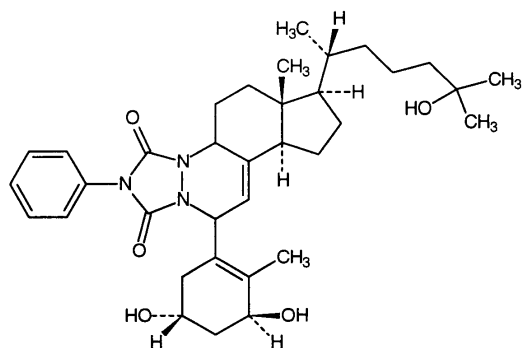
## Nečistoty



A. (5*E*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-1α,3β,25-triol (*trans*-kalcitriol),



B. (5*Z*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-1β,3β,25-triol (1β-kalcitriol),



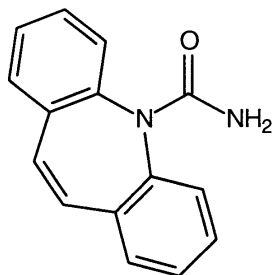
C. (6*aR*,7*R*,9*aR*)-11-[(3*S*,5*R*)-3,5-dihydroxy-2-methylcyklohex-1-enyl]-7-[(1*R*)-5-hydroxy-1,5-dimethylhexyl]-2-fenyl-6*a*-methyl-5,6,6*a*,7,8,9,9*a*,11-oktahydro-1*H*,4*aH*-cyklopenta[*f*]-[1,2,4]triazolo[1,2-*a*]cinnolin-1,3(2*H*)-dion (triazolinový adukt pre-kalcitriolu)

44. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Carbamazepinum zní:

”

## † Carbamazepinum

Karbamazepin



$C_{15}H_{12}N_2O$

$M_r$  236,27

CAS 298-46-4

Je to 5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-karboxamid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{15}H_{12}N_2O$ .

### Vlastnosti

*Vzhled.* Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek.

*Rozpustnost.* Velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v acetonu a v lihu 96%.

Vyazuje polymorfismus; přijatelná krystalická forma odpovídá karbamazepinu CRL.

### Zkoušky totožnosti

A. Teplota tání (2.2.14). 189 °C až 193 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

*Porovnání s karbamazepinem CRL.*

*Příprava.* Měří se látky bez předchozí úpravy ve formě tablet.

### Zkoušky na čistotu

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** 1,0 g se třepe 15 min s 20 ml vody prosté oxidu uhličitého R a zfiltruje se. K 10 ml filtrátu se přidá 0,05 ml fenolftaleinu RS1 a 0,5 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok je červený. Přidá se 1,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS; roztok je bezbarvý. Přidá se 0,15 ml červeně methylové RS; roztok je červený.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok (a).* 0,150 g se za použití ultrazvuku rozpustí v methanolu R2 a zředí se stejným rozpouštědlem na 50,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 20,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 10,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů vody R a methanolu R2 na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 7,5 mg karbamazepinu CRL, 7,5 mg karbamazepinu nečistoty A CRL a 7,5 mg iminodibenzylu R (nečistota E) se rozpustí v methanolu R2 a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů vody R a methanolu R2 na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 0,150 g karbamazepinu CRL se rozpustí v methanolu R2 a zředí se jím na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů vody R a methanolu R2 na 50,0 ml.

*Kolona:*

- *rozměry:* délka (*l*) 0,25 m, vnitřní průměr (*d*) 4,6 mm;
- *stacionární fáze:* silikagel nitrilovaný pro chromatografii R1 (10 μm);
- *teplota:* 40 °C.

*Mobilní fáze.* Připraví se směs objemových dílů tetrahydrofuranu R, methanolu R2 a vody R (3 + 12 + 85). K 1000 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml kyseliny mravenčí bezvodé R a 0,5 ml triethylaminu R.

*Průtoková rychlost.* 2,0 ml/min.

*Detekce.* Spektrofotometr, 230 nm.

*Nástřik.* Po 20 μl zkoušeného roztoku (a) a porovnávacího roztoku (a).

*Doba záznamu.* Šestinásobek retenčního času karbamazepinu, který je asi 10 min.

*Relativní retenční časy* vztažené na karbamazepin:

- nečistota B: asi 0,7;
- nečistota A: asi 0,9;
- nečistota C: asi 1,6;
- nečistota D: asi 3,5;
- nečistota E: asi 5,1.

*Test způsobilosti systému:*

- *rozlišení:* nejméně 1,7 mezi píkem karbamazepinu a píkem nečistoty A na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

*Limity:*

- *nečistota A:* nejvýše plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %);
- *nečistota E:* nejvýše plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %);
- *jakákoliv další nečistota:* nejvýše plocha píku karbamazepinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %);
- *celkový obsah všech nečistot:* nejvýše 5násobek plochy píku karbamazepinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %);
- *zanedbatelnost píků:* 0,5násobek plochy píku karbamazepinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,05 %).

**Chloridy (2.4.4).** Nejvýše 140 μg/g; 0,715 g se suspenduje ve 20 ml vody R a vaří se 10 min. Ochladí se, zředí se vodou R na 20 ml a zfiltruje se přes membránový filtr (jmenovitá velikost pórů: 0,8 μm). 10 ml filtrátu se zředí vodou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy.

**Těžké kovy (2.4.8).** Nejvýše 20 μg/g; 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy. Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 μg Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 2 h 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) způsobem popsáním ve zkoušce Příbuzné látky.

*Nástřik.* Po 20 μl zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b).

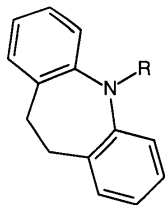
*Test způsobilosti systému:*

- *opakovatelnost:* hodnotí se porovnávací roztok (b).

Vypočítá se obsah karbamazepinu v procentech, počítáno na vysušenou látku.

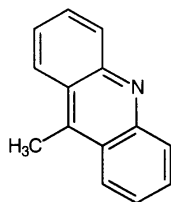
## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.  
Separandum.

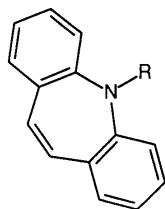
**Nečistoty**

A. R = CO-NH<sub>2</sub>: 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-karboxamid (10,11-dihydrokarbamazepin),

E. R = H: 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin (iminodibenzyl),



B. 9-methylakridin,



C. R = CO-NH-CO-NH<sub>2</sub>: (5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-ylkarbonyl)močovina (N-karbamoyl-karbamazepin)<sup>1)</sup>,

D. R = H: 5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin.

“

---

<sup>1)</sup> (N-karbamoyl-karbamazepin)

45. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Carboxymethylamylum natricum B doplňuje článek Carboxymethylamylum natricum C, který zní:

”

## Carboxymethylamylum natricum C

Sodná sůl karboxymethylškrobu (typ C)



Je to sodná sůl síťovaného, fyzikální dehydratací částečně O-karboxymethylovaného<sup>1)</sup> škrobu. Počítáno na látku promytou lihem 80% (V/V) a vysušenou, obsahuje 2,8 % až 5,0 % Na (A, 22,99).

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý jemný sypký prášek, velmi hygroskopický. Je dobře rozpustná ve vodě, prakticky nerozpustná v dichlormethanu. S vodou tvoří průsvitný gel.

Pozoruje se pod mikroskopem. Obsahuje zrna nepravidelného tvaru, vejčitá nebo hruškovitá o průměru 30 µm až 100 µm nebo okrouhlá o průměru 10 µm až 35 µm. Občas jsou shloučena do skupin po dvou až čtyřech. Zrna mají nepravidelnou mimostředovou trhlinu a zřetelné soustředěné vrstvení. Mezi příčnými Nikolovými hranoly (v polarizovaném světle) se středová trhlinu jeví jako černý kříž. Na povrchu zrn jsou patrné malé krystaly. Zrna ve vodě silně bobtnají.

### Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Hodnota pH, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. 4,0 g se třepou bez zahřátí s 20 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*; vznikne gel. Přidá se 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a protřepe se; gel zůstane (na rozdíl od typů A a B). Gel se použije ke zkouškám Vzhled a Hodnota pH.
- C. K 5 ml gelu získaného ve Zkoušce totožnosti B se přidá 0,05 ml *jodu RS1*; vznikne tmavě modré zbarvení.
- D. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** K 2,5 g v křemenném nebo platinovém kelímku se přidají 2 ml roztoku *kyseliny sírové R* (500 g/l), směs se zahřívá na vodní lázni, potom opatrně nad volným plamenem tak, aby se teplota postupně zvyšovala a pak se spaluje v muflové peci při (600 ± 25) °C do vymizení všech černých částic. Po ochlazení se přidá několik kapek *kyseliny sírové R* a znovu se zahřívá a spaluje. Po ochlazení se přidá několik kapek *uhlíčitánu amonného RS*, odpaří se do sucha a opatrně se spálí. Ochladí se a zbytek se rozpustí v 50 ml *vody R*.

**Vzhled gelu.** Gel, získaný ve Zkoušce totožnosti B, je bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,5 až 7,5; měří se gel získaný ve Zkoušce totožnosti B.

**Glykolan sodný.** *Zkouška se provádí za chránění před světlem.*

**Zkoušený roztok.** K 0,20 g v kádince se přidá 5 ml *kyseliny octové R* a 5 ml *vody R*. Míchá se do úplného rozpuštění (asi 10 min), přidá se 50 ml *acetonu R* a 1 g *chloridu sodného R*. Zfiltruje se přes řídký filtrační papír impregnovaný *acetonem R*. Kádinka a filtr se promyjí *acetonem R*, promývací tekutina se spojí s filtrátem a zředí *acetonem R* na 100,0 ml. Roztok se bez třepání nechá stát 24 h. Použije se čirá supernatantní tekutina.

<sup>1)</sup> O-karboxymethylovaného



**Porovnávací roztok.** 0,310 g kyseliny glykolové R předem vysušené ve vakuu nad oxidem fosforečným R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 500,0 ml. K 5,0 ml tohoto roztoku se přidá 5 ml kyseliny octové R a nechá se stát asi 30 min. Pak se přidá 50 ml acetonu R, 1 g chloridu sodného R a zředí se acetonem R na 100,0 ml.

2,0 ml zkoušeného roztoku se zahřívá 20 min na vodní lázni. Ochladí se na pokojovou teplotu, přidá 20,0 ml 2,7-dihydroxynaftalenu RS, protřepe se a zahřívá 20 min na vodní lázni. Pak se ochladí pod tekoucí vodou, převede se do odměrné baňky a zředí se kyselinou sírovou R na 25,0 ml. Baňka se stále chladí pod tekoucí vodou a do 10 min se měří absorbance při 540 nm (2.2.25) za použití vody R jako kontrolní tekutiny. Absorbance tohoto roztoku není větší než absorbance roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 2,0 ml porovnávacího roztoku (2,0 %).

**Chlorid sodný.** Nejvýše 1 %; 1,00 g se 10 min třepe s 20 ml lihu R 80 % (V/V) a zfiltruje se. Vytřepávání se opakuje čtyřikrát. Zbytek se vysuší do konstantní hmotnosti při 100 °C a uchová se pro Stanovení obsahu. Filtráty se spojí, odpaří se do sucha, zbytek se převede do vody R a zředí se jí na 25,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 30 ml vody R a 5 ml kyseliny dusičné zředěné RS a titruje se dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) za použití stříbrné indikační elektrody.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 5,844 mg NaCl.

**Železo (2.4.9).** 10 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na železo (20 µg/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 7,0 %; 1,000 g se suší 4 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Mikrobiální znečištění.** Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

### Stanovení obsahu

K 0,500 g suchého rozdrceného zbytku získaného ve zkoušce Chlorid sodný se přidá 80 ml kyseliny octové bezvodé R a 2 h se zahřívá pod zpětným chladičem. Po ochlazení na pokojovou teplotu se titruje kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Proveďte se slepá zkouška.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 2,299 mg Na.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem.

46. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Carmellosum natricum zní:

”

## Carmellosum natricum

Sodná sůl karmelosy

*Synonyma.* Carboxymethylcellulosum natricum, Carboxymethylcellulosum solubile, sodná sůl karboxymethylcelulosy



CAS 9004-32-4

Je to sodná sůl částečně O-karboxymethylované celulosy<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 6,5 % až 10,8 % Na (A, 22,99).

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý zrnitý prášek, po vysušení hygroskopický. Je prakticky nerozpustná v acetonu, v ethanolu, v etheru a v toluenu. Snadno se disperguje ve vodě za vzniku koloidních roztoků.

### Zkoušky totožnosti

- A. K 10 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml *síranu měďnatého RS*; vznikne modrá sraženina podobající se bavlně.
- B. 5 ml roztoku S se několik minut vaří; nevznikne žádná sraženina.
- C. Roztok připravený ze síranového popela ve zkoušce Těžké kovy, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** Množství zkoušené látky odpovídající 1,0 g vysušené látky se nasype na 90 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* zahřáté na 40 °C až 50 °C a silně se promíchá. Míchá se do vzniku koloidního roztoku, ochladí se a zředí se *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 100 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze III (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.

**Zdánlivá viskozita** (2.2.10). 75 % až 140 % hodnoty uvedené v označení na obalu. Množství zkoušené látky odpovídající 2,00 g vysušené látky se za míchání přidá do 50 ml *vody R* zahřáté na 90 °C. (U látek s nižší viskozitou se použije, je-li třeba, odpovídající množství podle deklarace na štítku.) Po ochlazení se zředí *vodou R* na 100,0 ml a míchá se do úplného rozpuštění. Měří se viskozita tohoto roztoku na rotačním viskozimetru při 20 °C a při smykovém poměru 10 s<sup>-1</sup>. Jestliže není možné přesně dosáhnout smykového poměru 10 s<sup>-1</sup>, použijí se hodnoty o něco vyšší a o něco nižší a interpoluje se.

**Glykolan sodný.** Množství zkoušené látky odpovídající 0,500 g vysušené látky se převede do kádinky. Přidá se 5 ml *kyseliny octové R*, 5 ml *vody R* a míchá se do úplného rozpuštění (asi 30 min). Přidá se 80 ml *acetonu R*, 2 g *chloridu sodného R* a zfiltruje se přes řídký filtrační papír impregnovaný *acetonem R* do odměrné baňky. Kádinka a filtr se promyjí *acetonem R*, promývací tekutina se spojí s filtrátem a zředí se *acetonem R* 100,0 ml. Nechá se 24 h stát bez třepání. Čirá supernatantní tekutina se použije jako zkoušený roztok.

<sup>1)</sup> sodná sůl částečně O-karboxymethylované celulosy

V odměrné baňce se rozpustí ve vodě R 0,310 g kyseliny glykolové R předem vysušené ve vakuu nad oxidem fosforečným R a zředí se stejným rozpouštědlem na 1000,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se převede do odměrné baňky, přidá se 5 ml kyseliny octové R a nechá se asi 30 min stát. Přidá se 80 ml acetonu R, 2 g chloridu sodného R a zředí se acetonem R na 100,0 ml. Tento roztok se použije jako porovnávací roztok.

2,0 ml každého roztoku se převede odděleně do 25ml odměrných baněk a baňky se zahřejí na vodní lázni do odstranění acetonu. Po ochlazení na pokojovou teplotu se přidá po 5,0 ml 2,7-dihydroxynaftalenu RS, promíchá se a přidá se ještě 15,0 ml 2,7-dihydroxynaftalenu RS. Baňky se uzavřou hliníkovou fólií a 20 min se zahřívají na vodní lázni. Potom se ochladí pod tekoucí vodou a zředí se kyselinou sírovou R na 25,0 ml. Do 10 min se přenese odděleně 10,0 ml obou roztoků do zkumavek s plochým dnem a roztoky se pozorují vertikálním směrem. Zkoušený roztok není intenzivněji zbarven než porovnávací roztok (0,4 %).

**Chloridy (2.4.4).** 2 ml roztoku S se zředí vodou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,25 %).

**Těžké kovy (2.4.8).** Ke zbytku získanému ve zkoušce Síranový popel se přidá 1 ml kyseliny chlorovodíkové R a odpaří se na vodní lázni. Zbytek se rozpustí ve 20 ml vody R. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 10,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** 20,0 % až 33,3 %; stanoví se s 1,00 g za použití směsi stejných objemových dílů kyseliny sírové R a vody R, počítáno na vysušenou látku. Rozmezí síranového popela odpovídá obsahu 6,5 % až 10,8 % sodíku.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

### Označování

V označení na obalu se uvede hodnota zdánlivé viskozity roztoku 20 g/l v milipascalsekundách; pro látku s nižší zdánlivou viskozitou se uvede koncentrace roztoku a zdánlivá viskozita v milipascalsekundách.

“

47. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Caryophylli flos zní:

”

---

## Caryophylli flos

Hřebíčkovcový květ



2001

---

Je to celé poupě druhu *Syzygium aromaticum* (L.) MERR. et L. M. PERRY (*Eugenia caryophyllus* (C.SPRENG.) BULL. et HARR.) sušené tak dlouho, dokud nezíská červenohnědou barvu. Obsahuje nejméně 150 ml silice v 1 kilogramu drogy.

### Vlastnosti

Droga má charakteristický aromatický pach.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

## Zkoušky totožnosti

- A.** Poupě je červenohnědé a skládá se ze čtyřhranné stopkaté části, hypanthia, dlouhé 10 mm až 12 mm, o průměru 2 mm až 3 mm, zakončené čtyřmi odstávajícími kališními ušty, které obklopují kulovitou hlavičku o průměru 4 mm až 6 mm. Dvoupouzdrý semeník, který obsahuje četná vajíčka, je uložen v horní části hypanthia. Hlavička je kulovitá nebo kupolovitá, je tvořena čtyřmi překrývajícími se lístky korunními, které uzavírají četné dovnitř skloněné tyčinky a krátkou vzpřímenou čnělku, na bázi s terčovitým nektariem. Stiskne-li se hypanthium mezi nehty, uvolňuje se silice.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je tmavě hnědý, chuť i pach jsou stejné jako u nerozdrobněné drogy. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: úlomky hypanthia s pokožkou a pod ní ležícími vrstvami parenchymu s velkými siličnými nádržkami; krátká vlákna, vyskytující se buď jednotlivě, nebo v malých skupinách, se ztlustlými zdřevnatělými, řídce tečkovanými stěnami; mohutný parenchym s drúzami šťavelanu vápenatého; četná trojhranná pylová zrna o průměru asi 15  $\mu\text{m}$ , se třemi klíčovými póry v rozích. Škrobová zrna chybí.
- C.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF<sub>254</sub> R*.  
*Zkoušený roztok.* 0,1 g práškové drogy (500) se protřepává 15 min se 2 ml *dichlormethanu R*. Zfiltruje se, filtrát se odpaří opatrně na vodní lázni do sucha. Odparek se rozpustí ve 2 ml *toluenu R*.  
*Porovnávací roztok.* 20  $\mu\text{l}$  *eugenolu R* se rozpustí ve 2 ml *toluenu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů (20 mm x 3 mm) 10  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku a 20  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku. Využívá se v nenasyčené komoře *toluenem R* po dráze 10 cm. Vrstva se suší 5 min volně na vzduchu a vyvíjí se ještě jednou za stejných podmínek. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm, skvrny zhášeující fluorescenci se označí. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je ve střední části patrna skvrna zhášeující fluorescenci (eugenol) odpovídající polohou skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku, pod skvrnou eugenolu může být další, méně intenzivní skvrna (acetyleugenol). Vrstva se postříká *anisaldehydem RS* (použije se 10 ml na plochu 200 mm<sup>2</sup>) a suší se 5 min až 10 min při 100° C až 105 °C, pozoruje se v denním světle. Skvrny odpovídající eugenolu na chromatogramech zkoušeného roztoku i porovnávacího roztoku jsou intenzivně hnědofialové, skvrna odpovídající acetyleugenolu na chromatogramu zkoušeného roztoku je slabě fialovomodře zbarvena. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou patrné další skvrny, v dolní části chromatogramu slabě červená, v horní části červenofialová (karyofylen).

## Zkoušky na čistotu

### Cizí příměsi (2.8.2):

- nejvýše 6 % rozkvetlých poupat, květních stopek a plodů,
- nejvýše 2 % znehodnocené drogy,
- nejvýše 0,5 % ostatních cizích příměsí.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 7,0 %.

## Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 5,0 g drogy se rozetře s 5,0 g *křemeliny R* na jemný homogenní prášek. 4,0 g této směsi se ihned použijí k vlastnímu stanovení. Destiluje se 2 h rychlostí 2,5 ml/min až 3,5 ml/min v 250ml baňce se 100 ml *vody R* jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,50 ml *xylenu R*.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.

48. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Cefalotinum natricum zní:

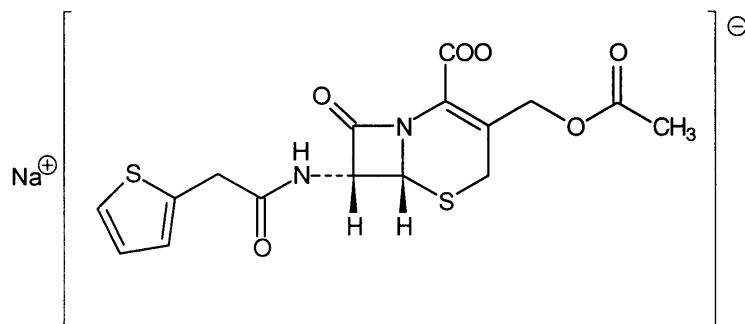
”

## † Cefalotinum natricum

Sodná sůl cefalotinu



2001



$C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$

$M_r$  418,41

CAS 58-71-9

Je to natrium-(6*R*,7*R*)-3-acetoxymethyl-8-oxo-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-5-thia-1-azabicyclo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylát<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 96,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$ .

### Výroba

Pokud se vyrábí způsobem, který může v látce zanechat zbytky dimethylanilinu a/nebo použitím vstupních surovin nebo meziproduktů, které mohou obsahovat zbytky dimethylanilinu, vyhovuje následující zkoušce:

**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, Metoda B). Nejvýše 20 µg/g.

Pokud se vyrábí způsobem, který může v látce zanechat zbytky kyseliny 2-ethylhexanové, vyhovuje následující zkoušce:

**Kyselina 2-ethylhexanová** (2.4.28). Nejvýše 0,5 %.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je snadno rozpustná ve vodě, těžce rozpustná v ethanolu.

### Zkoušky totožnosti

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *sodné soli cefalotinu CRL*.

**B.** Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 2,50 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého *R* a zředí se jí na 25,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1). Absorbance (2.2.25) roztoku S měřená při 450 nm není vyšší než 0,20.

<sup>1)</sup> natrium-(6*R*,7*R*)-3-acetoxymethyl-8-oxo-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]-okt-2-en-2-karboxylát

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,5 až 7,0; měří se roztok S.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +124° až +134°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 1,25 g ve vodě R a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu. Nastříkne se zkoušený roztok a porovnávací roztok (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající nejméně čtyřnásobku 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 součet ploch všech takových píků není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,5 %; 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 vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,13 m.j. endotoxinu v miligramu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25,0 mg *sodné soli cefalotinu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se 10 min zahřívá ve vodní lázni při 90 °C. Ochladí se a ihned se vstříkne.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze připravené takto: 17 g *octanu sodného R* se rozpustí v 790 ml *vody R*, přidá se 0,6 ml *kyseliny octové ledové R*, a je-li třeba, upraví se pH *hydroxidem sodným zředěným RS* nebo *kyselinou octovou ledovou R* na hodnotu 5,8 až 6,0, přidá se 150 ml *acetonitrilu R* a 70 ml *ethanolu R* a promíchá se; průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm,
- injektorové smyčky, 10 μl.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se porovnávací roztok (c) a nastaví se citlivost zapisovače tak, aby výška píků odpovídala nejméně polovině celé stupnice zapisovače. Na získaném chromatogramu jsou dva hlavní píky odpovídající cefalotinu a desacetylcefalotinu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi těmito dvěma píky není menší než 9,0. Podle potřeby se přizpůsobí obsah acetonitrilu v mobilní fázi. Zkoušku lze hodnotit, je-li faktor symetrie píku cefalotinu nejvýše 1,8. Porovnávací roztok (a) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, je-li relativní směrodatná odchylka plochy píku cefalotinu nejvýše 1,0 %. Nastříkne se střídavě zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

Vypočítá se obsah sodné soli cefalotinu v procentech.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem. Jestliže je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

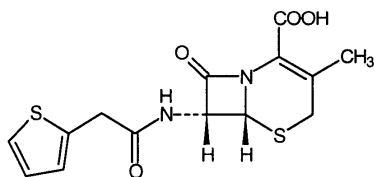
Separandum.

## Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

## Nečistoty



A. kyselina (6*R*,7*R*)-3-methyl-8-oxo-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová<sup>2)</sup> (deacetoxycefalotin).

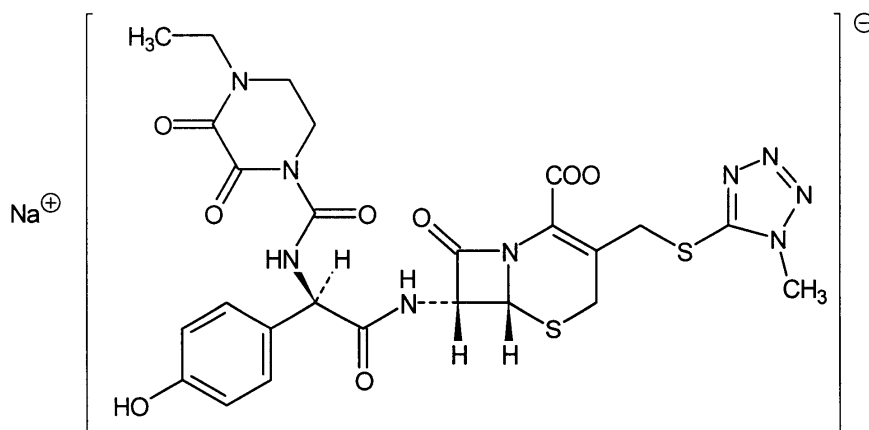
“

49. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Cefoperazonum natrium zní:

”

## † Cefoperazonum natrium

Sodná sůl cefoperazonu

C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>9</sub>NaO<sub>8</sub>S<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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-karboxylát<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou a acetonu prostou látku, obsahuje 95,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>25</sub>H<sub>26</sub>N<sub>9</sub>NaO<sub>8</sub>S<sub>2</sub>.

<sup>2)</sup> kyselina (6*R*,7*R*)-3-methyl-8-oxo-7-[2-(2-thienyl)acetamido]-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová

<sup>1)</sup> 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]sulfanyl]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylát

## Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý prášek, hygroskopický. Je snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v methanolu, těžce rozpustná v lihu 96%.

Pokud je látka krystalická, vykazuje polymorfismus.

## Zkoušky totožnosti

**A.** Zkoušená látka se rozpustí v *methanolu R* a odpaří se do sucha. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá referenčnímu spektru *Ph. Eur. sodné soli cefoperazonu*.

**B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídá retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**C.** 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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 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 zkoušené látky 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 dle níže uvedené tabulky:

Číslo lahvičky	Roztok vzorku (ml)	Roztok rozpouštědla (ml)	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 ze zkoušky na zbytková rozpouštědla (2.4.24) s následujícími podmínkami pro statický head-space nástřik:

- doba ustalování: 15 min,

- teplota spojovacího vedení: 110 °C,

Teplota kolony se udržuje 10 min na 40 °C.

**Těžké kovy** (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (5  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku *olova* (10  $\mu$ g Pb/ml).

**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 vhodného 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 cefoperazonudihydrátu 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 μl 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 na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je počet teoretických pater počítaných pro hlavní pík nejméně 5000 a faktor symetrie píku je nejvýše 1,6. V případě potřeby se upraví množství *acetonitrilu R* v mobilní fázi. Porovnávací roztok (a) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku je nejvýše 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 vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

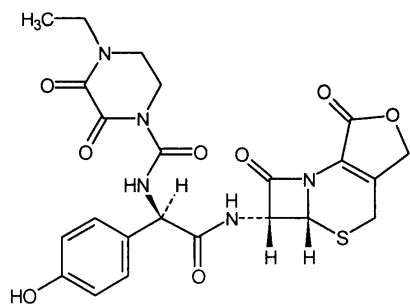
Separandum.

### Označování

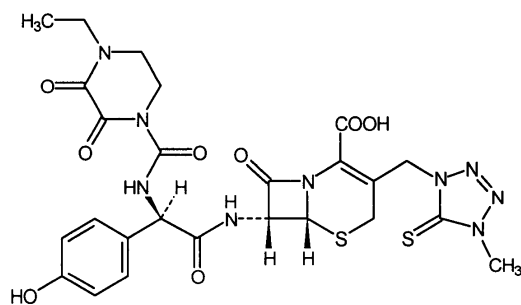
V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

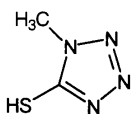
## Nečistoty



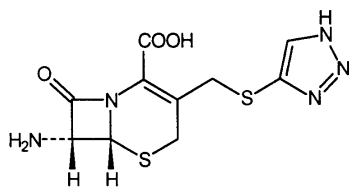
- A. (2*R*)-*N*-[(5*a R*,6*R*)-1,7-dioxo-1,4,6,7-tetrahydro-3*H*,5*aH*-azeto[2,1-*b*]furo[3,4-*d*][1,3]thiazin-6-yl]-2-[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]amino}-2-(4-hydroxyfenyl)acetamid<sup>2)</sup>,



- B. kyselina (6*R*,7*R*)-7-[(2*R*)-2-[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]amino}-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3-[(4-methyl-5-thioxo-4,5-dihydro-1*H*-tetrazol-1-yl)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová<sup>3)</sup>,



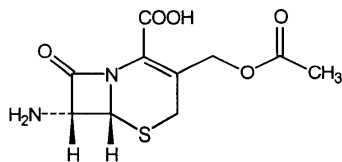
- C. 1-methyl-1*H*-tetrazol-5-thiol,



- D. kyselina (6*R*,7*R*)-3-[[1*H*-1,2,3-thiazol-4-yl]thio]methyl]-8-oxo-7-amino-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová<sup>4)</sup> (7-TACA),

<sup>2)</sup> (2*R*)-*N*-[(5*a R*,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]karbonyl]amino}-2-(4-hydroxyfenyl)acetamid

<sup>3)</sup> kyselina (6*R*,7*R*)-7-[(2*R*)-2-[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]amino}-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3-[(4-methyl-5-thioxo-4,5-dihydro-1*H*-tetrazol-1-yl)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová



E. kyselina 3-acetoxymethyl-7-amino-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová<sup>5)</sup> (7-ACA).

66

50. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ceftazidimum pentahydricum zní:

”

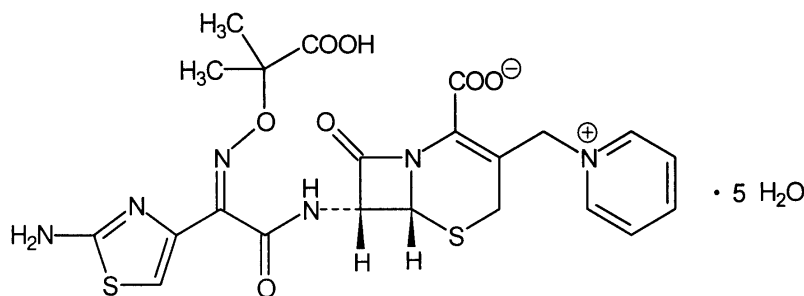
## † Ceftazidimum pentahydricum

Pentahydrát ceftazidimu

*Synonymum.* Ceftazidimum



2001



$C_{22}H_{22}N_6O_7S_2 \cdot 5H_2O$

$M_r$  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<sup>1)</sup>. 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.

<sup>4)</sup> kyselina (6*R*,7*R*)-3-[[2-(2-thiazol-4-yl)sulfanyl]methyl]-8-oxo-7-amino-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová

<sup>5)</sup> kyselina 3-acetoxymethyl-7-amino-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová

<sup>1)</sup> pentahydrát (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(1-karboxy-1-methylethoxy)imino]acetamido]-8-oxo-3-(pyridiniomethyl)-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylátu

## Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *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  $\mu$ l 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 proudu teplého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna s hodnotou  $R_F$  větší, než je  $R_F$  hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %).

**B.** Proveďte se kapalinová chromatografie (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 mg *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 *pentahydrátu 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  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (22,6 g/l), jehož pH bylo předem upraveno roztokem *kyseliny fosforečné R* 10 % (V/V) na hodnotu 3,9 (7 + 93); průtoková rychlost je 1,3 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 255 nm.  
Teplota kolony se udržuje na 35 °C.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky dvou píků na chromatogramu byly nejméně 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  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l 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 je 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Pyridin.** Nejvýše 500  $\mu$ g/g; proveďte se kapalinová chromatografie (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), jehož pH bylo předem upraveno amoniakem 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 hlavního 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

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 25,0 mg 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 celfazidimu nečistoty A je nejméně 1,0. Střídavě se nastříkuje zkoušený roztok a porovnávací roztok (a). Vypočte se obsah ceftazidimu v procentech.

## Uchovávání

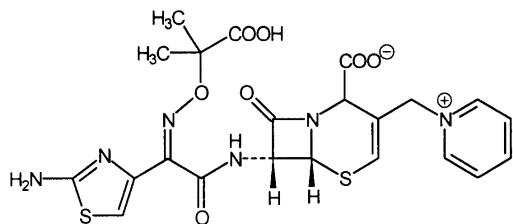
Ve vzduchotěsných obalech. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech. Separandum.

## Označování

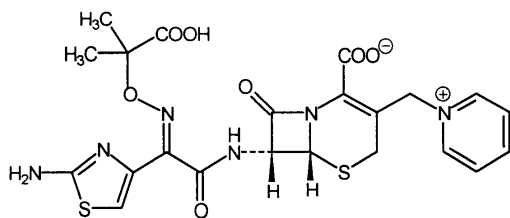
V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

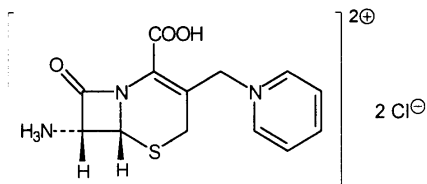
## Nečistoty



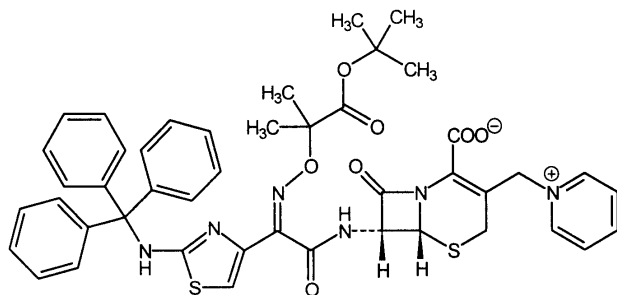
A. (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(1-karboxy-1-methylethoxy)imino]acetamido]-8-oxo-3-(1-pyridinio)methyl-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-3-en-2-karboxylat<sup>2)</sup> ( $\Delta$ -2-ceftazidim),



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<sup>3)</sup>,



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<sup>4)</sup>,



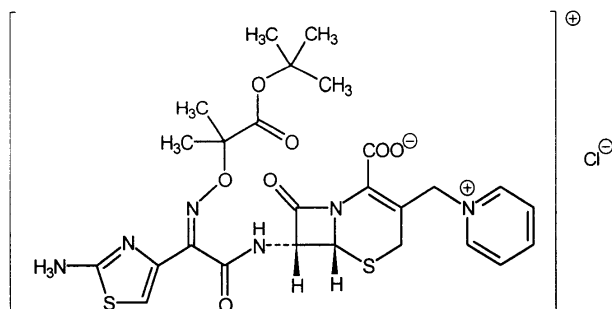
D. (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-[2-[(trifenylmethyl)amino]thiazol-4-yl]-2-[(1,1-dimethyl-2-oxo-2-terc.buoxoethoxy)imino]acetamido]-8-oxo-3-(1-pyridinio)methyl-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylat<sup>5)</sup>,

<sup>2)</sup> (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(1-karboxy-1-methylethoxy)imino]acetamido]-8-oxo-3-(pyridiniomethyl)-5-thia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-3-en-2-karboxylát

<sup>3)</sup> (6*R*,7*R*)-7-[(*E*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(1-karboxy-1-methylethoxy)imino]acetamido]-8-oxo-3-(pyridiniomethyl)-5-thia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboxylát

<sup>4)</sup> (6*R*,7*R*)-2-karboxy-8-oxo-3-(pyridiniomethyl)-5-thia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-7-ylamonium-dichlorid

<sup>5)</sup> (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-(pyridiniomethyl)-5-thia-1-azabicyklo[4.2.0]okt-2-en-2-karboxylát



E. (6*R*,7*R*)-4-[(*Z*)-2-oxo-2-[[2-karboxylato-8-oxo-3-(1-pyridinio)methyl-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-7-yl]amino]-1-[(1,1-dimethyl-2-oxo-2-terc.butoxyethoxy)imino]ethyl]thiazol-2-ylamoniumchlorid<sup>6)</sup>,

F. pyridin.

“

51. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Centaurii herba* doplňuje článek *Centellae asiaticae herba*, který zní:

”

## Centellae asiaticae herba

Pupečnicková nať

*Synonymum*. Herba centellae asiaticae



2001

Je to usušená řezaná nať druhu *Centella asiatica* (L.) URBAN. Celkový obsah derivátů triterpenu je nejméně 6,0 %, vyjádřeno jako asiatikosid (C<sub>48</sub>H<sub>78</sub>O<sub>19</sub>; M<sub>r</sub> 959,15), počítáno na sušinu.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

A. Listy mají proměnlivou velikost; řapík je obvykle pětikrát až desetkrát, někdy patnáctkrát delší než čepel, která je 10 mm až 40 mm dlouhá a 20 mm až 40 mm, často až 70 mm široká. Listy jsou střídané, často na uzlinách shloučené, jsou ledvinovité nebo okrouhlé, nebo oválně eliptické, s dlanitou žilnatinou, obvykle se sedmi žilkami, okraj čepel je vroubkovaný. Mladé listy naspodu ochmýřené, starší listy jsou olýsalé. Květenství, je-li přítomno, tvoří jednoduchý okolík, většinou tříkvětý, řidčeji dvou nebo čtyřkvětý. Květy jsou velmi malé (asi 2 mm), pětičetné, semeník spodní; plod je hnědošedá okrouhlá nažka, až 5 mm dlouhá, ze stran silně zploštělá se sedmi až devíti vyniklými zakřivenými žebry.

<sup>6)</sup> (6*R*,7*R*)-4-[(*Z*)-2-oxo-2-[[2-karboxylato-8-oxo-3-(pyridiniomethyl)-5-thia-1-azabicyklo[4.2.0]-okt-2-en-7-yl]amino]-1-[(1,1-dimethyl-2-oxo-2-terc.butoxyethoxy)imino]ethyl]thiazol-2-ylamonium-chlorid

**B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je zelenošedý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: četné úlomky pokožky listu s mnohohrannými buňkami a nepravidelně rýhovanou kutikulou, paracytické průduchy (2.8.3) jsou četnější na spodní straně listu; úlomky pokožky řapíku s protáhlými buňkami; dlouhé, jednobuněčné, jednořadé někdy mnohobuněčné zprohýbané krycí chlupy; mladé lístky; cévy šroubovitě ztlustlé; pryskyřičné kanálky; krystaly a drúzy šťavelanu vápenatého o průměru až 40 μm; svazky úzkých komůrkových vláken stonku; úlomky plodu s vrstvami širokých, parketovitě uspořádaných buněk, cévami kruhovitě ztlustlými a buňkami parenchymu obsahujícími jednoduchá nebo složená škrobová zrna.

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

*Zkoušený roztok.* 5,0 g práškované drogy (355) se smíchá s 50 ml *lihu R 30 % (V/V)*, zahřeje se k varu pod zpětným chladičem a pak se odstředí.

*Porovnávací roztok.* 5 mg *asiatikosidu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese do pruhů po 10 μl obou roztoků a vyvíjí se směs objemových dílů směsi *kyseliny octové R, kyseliny mravenčí R, vody R a ethylacetátu R* (11 + 11 + 27 + 100) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* a suší se při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině zelenomodrá skvrna (*asiatikosid*). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je skvrna odpovídající polohou a zbarvením skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (*asiatikosid*), pod ní je fialová skvrna (*madekasid*), blízko čela chromatogramu je světle modrá skvrna (*kyselina asiatická*) a bezprostředně pod ní růžově fialová skvrna (*kyselina madekasová*). V dolní polovině chromatogramu zkoušeného roztoku jsou mezi startem a skvrnou odpovídající *madekasosidu* hnědé, šedé a hnědozelené skvrny a nad skvrnou odpovídající *asiatikosidu* hnědožluté nebo světle žluté skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi** (2.8.2). Nejvýše 7 %, z toho nejvýše 5 % podzemních orgánů a nejvýše 2 % dalších cizích příměsí.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 10,0 %; 1,000 g práškované drogy se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel** (2.4.16). Nejvýše 12,0 %.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 5,0 g práškované drogy (355) se extrahuje 8 h v Soxhletově přístroji se 100 ml *methanolu R*. Po ochlazení se roztok zředí *methanolem R* na 100,0 ml a zfiltruje se (0,45 μm). 2,0 ml filtrátu se zředí *methanolem R* na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 20,0 mg *asiatikosidu R* se rozpustí v *methanolu R*, je-li třeba za použití ultrazvukové lázně, a zředí se jím na 20,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze při průtokové rychlosti 1,0 ml/min:
  - mobilní fáze A - *acetonitril pro chromatografii R*,
  - mobilní fáze B - 3 ml *kyseliny fosforečné R* se zředí *vodou R* na 1000 ml,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 65	22	78
65 - 66	55	45
66 - 76	95	5
76 - 85	22	78

- spektrofotometrického detektoru, 200 nm.

Nastříkne se po 20 μl obou roztoků.



Vypočítá se odezvosý faktor pro asiaticosid ze vztahu:

$$R_f = \frac{A_1 \cdot V_1 \cdot 100}{m_1 \cdot HPLC_p},$$

v němž značí:

- $A_1$  - plochu píku odpovídajícího asiaticosidu na chromatogramu porovnávacího roztoku,  
 $V_1$  - objem porovnávacího roztoku v mililitrech,  
 $m_1$  - hmotnost asiaticosidu v porovnávacím roztoku v miligramech,  
 $HPLC_p$  - stanovená čistota asiaticosidu.

Vypočítá se průměrný odezvosý faktor pro asiaticosid ze vztahu:

$$\bar{R}_f = \frac{\sum_{i=1}^N R_{fi}}{N},$$

v němž značí:

- $\sum_{i=1}^N R_{fi}$  - součet odezvosých faktorů asiaticosidu na chromatogramech porovnávacích roztoků,  
 $N$  - počet nástřiků porovnávacích roztoků ( $N = 4$ , nejméně).

Vypočítá se celkový obsah derivátů triterpenu, počítáno jako asiaticosid ( $C_{48}H_{78}O_{19}$ ), ze vztahu:

$$\frac{V}{m} \left[ \frac{A + (B \cdot 1,017) + (C \cdot 0,526) + (D \cdot 0,509)}{\bar{R}_f} \right],$$

v němž značí:

- $V$  - objem zkoušeného roztoku v mililitrech,  
 $m$  - hmotnost drogy ve zkoušeném roztoku v miligramech,  
 $A$  - plochu píku odpovídajícího asiaticosidu na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $B$  - plochu píku odpovídajícího madekasosidu na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $C$  - plochu píku odpovídajícího kyselině madekasové na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $D$  - plochu píku odpovídajícího kyselině asiaticové na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $\bar{R}_f$  - průměrný odezvosý faktor pro asiaticosid.

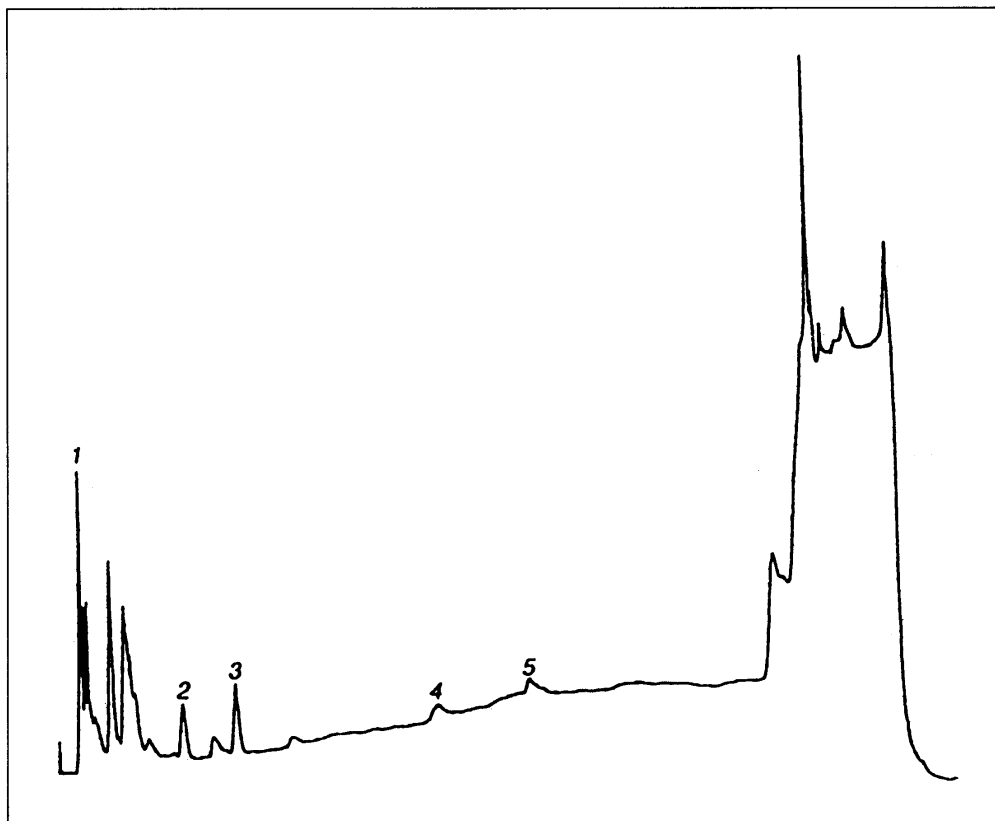
*Relativní retenční čas vztahený k rozpouštědлу:*

- madekasosid: asi 5,8;
- asiaticosid: asi 8,1;
- kyselina madekasová: asi 17,6;
- kyselina asiaticová: asi 21,7.

## Uchovávání

Chráněna před světlem.

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.



**Obr. 1** Vzorový chromatogram Centellae asiaticae herba pro zkoušku Stanovení obsahu  
1 = rozpouštědlo, 2 = madekasosid, 3 = asiaticosid, 4 = kyselina madekasová, 5 = kyselina asiaticková

“

52. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Cera alba zní:

”

## Cera alba

Bílý vosk



2001

CAS 8012-89-3

Je to včelí vosk získaný bělením žlutého včelího vosku.

## Vlastnosti

Bílé nebo nažloutlé kousky nebo destičky, v tenké vrstvě průsvitné, jemně zrnitého, matného, nikoli krystalického lomu; pach nevýrazný, medový, jemnější než u žlutého vosku, nikdy není žluklý. Vosk je bez chuti, nelepí se na zuby, zahřátím v dlani měkne a stává se tvárným. Je prakticky nerozpustný ve vodě, částečně se rozpouští v horkém lihu 90% (V/V), zcela se rozpouští v mastných olejích a silicích.

Relativní hustota je asi 0,960.

## Zkoušky totožnosti

**Teplota skápnutí (2.2.17).** 61 °C až 65 °C. Zkoušená látka se rozpustí zahřátím na vodní lázni, nalije se na skleněnou desku a nechá se vychladnout na polotuhou hmotu. Kovový kelímek se vtačí širším koncem do zkoušené látky, postup se opakuje tak dlouho, dokud není zkoušená látka vytlačována úzkým otvorem. Přebytek vosku se odstraní kopistkou a dovnitř se okamžitě vloží teploměr. Vytlačený vosk se odstraní. Po 12 h stání při pokojové teplotě se stanoví teplota skápnutí.

**Číslo kyselosti.** 17,0 až 24,0. 2,00 g (*m* g) se v 250ml kuželové baňce smíchají se 40 ml *xylenu R*, přidá se několik varných kamíneků a zahřívá se pod zpětným chladičem do rozpuštění. Přidá se 20 ml *lihu 96% R*, 0,5 ml *fenolftaleinu RS1* a ještě horký roztok se titruje *hydroxidem draselným v lihu 0,5 mol/l VS* ( $n_1$  ml) až do vzniku červeného zbarvení, které je stálé nejméně 10 s. Proveďte se slepá zkouška ( $n_2$  ml).

Číslo kyselosti (*x*) se vypočítá podle vztahu:

$$x = \frac{28,05(n_1 - n_2)}{m}.$$

**Číslo esterové (2.5.2).** 70 až 80.

**Poměr čísel.** Poměr čísla esterového k číslu kyselosti je 3,3 až 4,3.

**Číslo zmydelnění.** 87 až 104. 2,00 g (*m* g) se v 250ml kuželové baňce smíchají se 30 ml směsi stejných objemových dílů *lihu 96% R* a *xylenu R*, přidá se několik varných kamíneků a zahřívá se pod zpětným chladičem do rozpuštění. Přidá se 25,0 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS* a vaří se 3 h pod zpětným chladičem. Přidá se 1 ml *fenolftaleinu RS1*; ještě horký roztok se ihned titruje *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS* ( $n_1$  ml). Roztok se během titrace několikrát zahřeje k varu. Proveďte se slepá zkouška ( $n_2$  ml).

Číslo zmydelnění (*x*) se vypočítá podle vztahu:

$$x = \frac{28,05(n_2 - n_1)}{m}.$$

**Ceresin, parafíny a některé další vosky.** 3,0 g se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchají s 30 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (40 g/l) v *lihu 96% prostém aldehydů R* a mírně se vaří 2 h pod zpětným chladičem. Zpětný chladič se odstraní a do baňky se ihned vloží teploměr. Baňka se vloží do vody 80 °C teplé a za stálého míchání se roztok nechá vychladnout. Nevzniká sraženina do teploty 65 °C, přesto roztok může slabě opalizovat. Při teplotě 65 °C se zakaluje a může se tvořit sraženina. Při teplotě 59 °C je roztok zakalený.

**Glycerol a jiné polyoly.** 0,20 g se smíchá s 10 ml *hydroxidu draselného v lihu RS* a zahřívá se 30 min na vodní lázni pod zpětným chladičem. Pak se přidá 50 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a po ochlazení se zfiltruje. Baňka i filtr se promyjí *kyselinou sírovou zředěnou RS*. Spojené filtráty a promývací tekutiny se zředí *kyselinou sírovou zředěnou RS* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se ve zkumavce smíchá s 0,5 ml roztoku *jodistanu sodného R* (10,7 g/l) a nechá se 5 min stát. Přidá se 1,0 ml *fuchsínu RS* a promíchá se; případně vzniklá sraženina zmizí. Zkumavka se vloží do kádinky naplněné vodou 40 °C teplou. Nechá se vychladnout a pozoruje se 10 min až 15 min. Modrofialové zbarvení zkoušeného roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 1,0 ml roztoku *glycerolu R* (0,01 g/l) v *kyselině sírové zředěné RS* (0,5 %, počítáno jako glycerol).

53. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Cera flava zní:

”

## Cera flava

Žlutý vosk



CAS 8012-89-3

Je to včelí vosk získaný roztavením stěn pláství vytvořených včelou medonosnou, *Apis mellifera* L., v horké vodě, zbavený cizích příměsí.

### Vlastnosti

Žluté nebo světle hnědé kousky nebo destičky, jemně zrnitého, matného, nikoli krystalického lomu; pach nevýrazný, medový. Vosk je bez chuti, nelepí se na zuby. Zahřátím v dlani měkne a stává se tvárným. Je prakticky nerozpustný ve vodě; částečně se rozpouští v horkém lihu 90% (V/V) a v etheru, zcela se rozpouští v mastných olejích a silicích.

Relativní hustota je asi 0,960.

### Zkoušky totožnosti

**Teplota skápnutí** (2.2.17). 61 °C až 65 °C. Zkoušená látka se rozpustí zahřátím na vodní lázni, nalije se na skleněnou desku a nechá se vychladnout na polotuhou hmotu. Kovový kelímek se vtlačí širším koncem do zkoušené látky, postup se opakuje tak dlouho, dokud není zkoušená látka vytlačována úzkým otvorem. Přebytek vosku se odstraní kopistkou a dovnitř se okamžitě vloží teploměr. Vytlačený vosk se odstraní. Po 12 h stání při pokojové teplotě se stanoví teplota skápnutí.

**Číslo kyselosti**. 17,0 až 22,0. 2,00 g (*m* g) se v 250ml kuželové baňce smíchají se 40 ml *xylenu R*, přidá se několik varných kamínků a zahřívá se pod zpětným chladičem do rozpuštění. Přidá se 20 ml *lihu 96% R*, 0,5 ml *fenolftaleinu RS1* a ještě horký roztok se titruje *hydroxidem draselným v lihu 0,5 mol/l VS* ( $n_1$  ml) až do vzniku červeného zbarvení, které je stále nejméně 10 s. Proveďte se slepá zkouška ( $n_2$  ml).

Číslo kyselosti ( $x$ ) se vypočítá podle vztahu:

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

**Číslo esterové** (2.5.2). 70 až 80.

**Poměr čísel**. Poměr čísla esterového k číslu kyselosti je 3,3 až 4,3.

**Číslo zmydelnění**. 87 až 102. 2,00 g (*m* g) se v 250ml kuželové baňce smíchají s 30 ml směsi stejných objemových dílů *lihu 96% R* a *xylenu R*, přidá se několik varných kamínků a zahřívá se pod zpětným chladičem do rozpuštění. Přidá se 25,0 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS* a vaří se 3 h pod zpětným chladičem. Přidá se 1 ml *fenolftaleinu RS1*; ještě horký roztok se ihned titruje *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS* ( $n_1$  ml). Roztok se během titrace několikrát zahřeje k varu. Proveďte se slepá zkouška ( $n_2$  ml).

Číslo zmydelnění ( $x$ ) se vypočítá podle vztahu:

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

**Ceresin, parafíny a některé další vosky**. 3,0 g se v 100ml baňce s kulatým dnem smíchají s 30 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (40 g/l) v *lihu 96% prostém aldehydů R* a mírně se vaří 2 h pod zpětným chladičem. Zpětný chladič se odstraní a do baňky se ihned vloží teploměr. Baňka se vloží do vody 80 °C teplé a za stálého míchání se roztok nechá

chladnout. Nevzniká sraženina do teploty 65 °C, přesto roztok může slabě opalizovat. Při teplotě 65 °C se zakaluje a může se tvořit sraženina. Při teplotě 59 °C je roztok zakalený.

**Glycerol a jiné polyoly.** K 0,20 g se přidá 10 ml *hydroxidu draselného v lihu RS* a zahřívá se 30 min na vodní lázni pod zpětným chladičem. Pak se přidá 50 ml *kyseliny sírové zředěné RS*; po ochlazení se zfiltruje. Baňka i filtr se promyjí *kyselinou sírovou zředěnou RS*. Spojené filtráty a promývací tekutiny se zředí *kyselinou sírovou zředěnou RS* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se ve zkumavce smíchá s 0,5 ml roztoku *jodistanu sodného R* (10,7 g/l) a nechá se 5 min stát. Přidá se 1,0 ml *fuchsinu RS* a promíchá se; nevznikne sraženina. Zkumavka se vloží do kádinky naplněné vodou 40 °C teplou. Nechá se chladnout a pozoruje se 10 min až 15 min. Modrofialové zbarvení zkoušeného roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 1,0 ml roztoku *glycerolu R* (0,01 g/l) v *kyselině sírové zředěné RS* (0,5 %, počítáno jako glycerol).

“

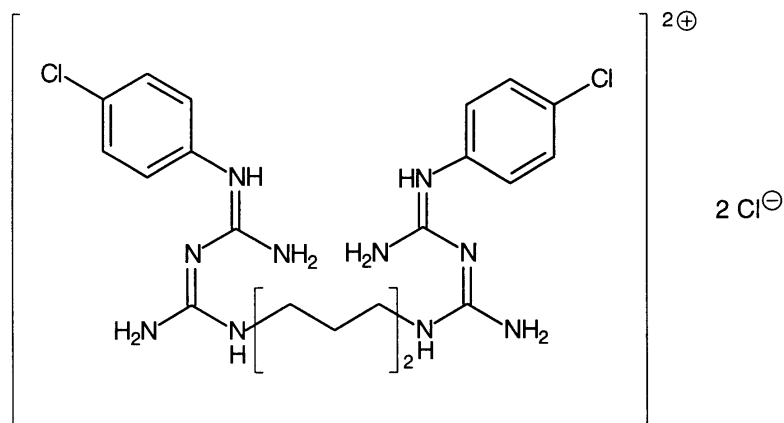
54. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Chlorhexidini dihydrochloridum zní:

”

## Chlorhexidini dihydrochloridum

Chlorhexidiniumdichlorid

2001



$C_{22}H_{32}Cl_4N_{10}$

$M_r$  578,37

CAS 3697-42-5

Je to 1,1'-hexamethylenbis[5-(4-chlorfenyl)biguanidinium]dichlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{22}H_{32}Cl_4N_{10}$ .

<sup>1)</sup> 1,1'-hexamethylenbis[5-(4-chlorfenyl)biguanidinium]-dichlorid

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě a v propylenglykolu, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D, viz *Obecné zásady (1.2)*.

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *chlorhexidiniumdichloridu CRL*.

B. Asi 5 mg se rozpustí v 5 ml teplého roztoku *cetrimidu R* (10 g/l), přidá se 1 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS* a 1 ml *bromové vody R*; vznikne tmavě červené zbarvení.

C. 0,3 g se rozpustí v 10 ml směsi stejných objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *vody R*, přidá se 40 ml *vody R*, v případě potřeby se zfiltruje a ochladí se ve vodě s ledem. Potom se přidává po kapkách za stálého míchání *hydroxid sodný koncentrovaný RS* do alkalické reakce za použití *papíru se žlutí titanovou R* a stejného hydroxidu se přidá nadbytek 1 ml. Vzniklá sraženina se odfiltruje a promývá *vodou R* tak dlouho, až filtrát nereaguje zásaditě. Sraženina se překrystalizuje z *lihu R 70 % (V/V)* a vysuší se při 100 °C až 105 °C. Sraženina taje (2.2.14) při 132 °C až 136 °C.

D. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Chloranilin.** Nejvýše 500 µg/g. 0,20 g se disperguje ve 25 ml *vody R*, přidá se 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, třepe se do rozpuštění a zředí se *vodou R* na 30 ml. Rychle se přidá a po každém přidání promíchá: 2,5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, 0,35 ml *dusitanu sodného RS*, 2 ml roztoku *amidosíranu amonného R* (50 g/l), 5 ml roztoku *naftylethylendiamoniumdichloridu R* (1,0 g/l), 1 ml *lihu 96% R*; zředí se *vodou R* na 50,0 ml a nechá se 30 min stát; červenomodré zbarvení tohoto roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití směsi 10,0 ml roztoku *chloranilinu R* (0,010 g/l) v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a 20 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* místo roztoku zkoušené látky.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,200 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 15 mg *chlorhexidinu pro test způsobilosti CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 2,5 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 2,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí mobilní fází na 10 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,2 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je roztok 2,0 g *oktansulfonanu sodného R* ve směsi 270 ml *vody R*, 730 ml *methanolu R* a 120 ml *kyseliny octové ledové R*, s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Kolona se promývá mobilní fází do ustavení rovnováhy nejméně 1 h. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) po nastříknutí 10 µl byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže výsledný chromatogram je shodný se vzorovým chromatogramem, dodávaným s *chlorhexidinem pro test způsobilosti CRL* u píků náležejících nečistotě A a nečistotě B, které předcházejí píku chlorhexidinu. Je-li třeba, upraví se koncentrace kyseliny octové v mobilní fázi (zvýšením koncentrace se snižují retenční časy).

Nastříkne se odděleně po 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku, porovnávacího roztoku (b) a porovnávacího roztoku (c). Zaznamenají se chromatogramy porovnávacího roztoku (b) a porovnávacího roztoku (c) a až když byl pík chlorhexidinu eluován, zaznamená se chromatogram zkoušeného roztoku po dobu šestinásobku retenčního času píku chlorhexidinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,5 %). Nepřihlíží se k píkům s relativním retenčním časem 0,25 nebo menším, vztaženo k hlavnímu píku, a k píkům s plochou menší, než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

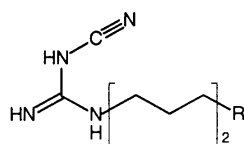
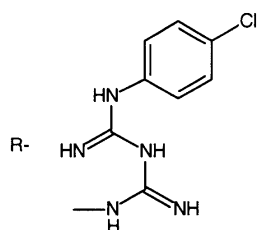
**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

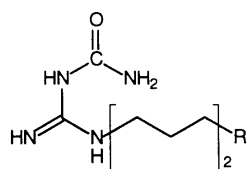
100,0 mg se rozpustí v 5 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R* a přidá se 70 ml *acetanhydridu R*. Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 14,46 mg  $C_{22}H_{32}Cl_4N_{10}$ .

### Nečistoty

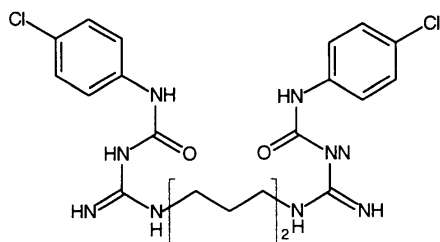
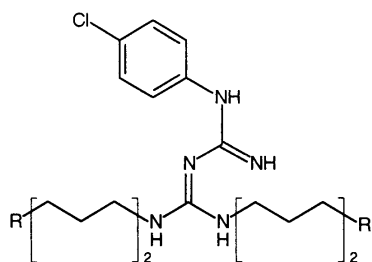


A. 1-(4-chlorfenyl)-5-[6-(3-kyanguanidino)hexyl]biguanid,



B. 1-[N-[6-[5-(4-chlorfenyl)biguanidino]hexyl]amidino]močovina<sup>2)</sup>,

<sup>2)</sup> 1-(N-{6-[5-(4-chlorfenyl)biguanidino]hexyl}karbamimidoyl)močovina

C. 1,1'-hexamethylenbis[1-amidino-3-(4-chlorofenyl)močovina]<sup>3)</sup>,D. 5,5'-bis(4-chlorofenyl)-1,1'-[6,6'-[[[(4-chlorofenylamino)(imino)methyl]imino]-methylendiamino]dihexamethylen]bis(biguanid)<sup>4)</sup>.

<sup>3)</sup> 1,1'-hexamethylenbis[1-karbamidoyl-3-(4-chlorofenyl)močovina]

<sup>4)</sup> 5,5'-bis(4-chlorofenyl)-1,1'-[6,6'-{[(4-chlorofenylamino)(imino)methyl]imino}methylendiamino]dihexamethylen]bis(biguanid)



55. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Chlorprothixeni hydrochloridum zní:

”

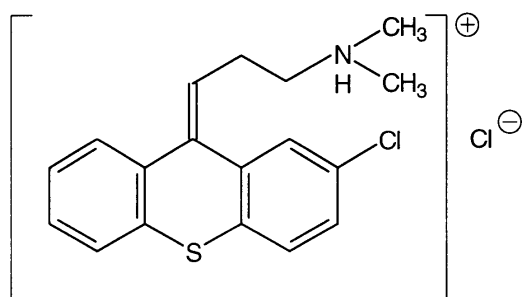
## † Chlorprothixeni hydrochloridum

Chlorprothixeniumchlorid

*Synonymum.* Chlorprothixenium chloratum



2001



$C_{18}H_{19}Cl_2NS$

$M_r$  352,32

CAS 6469-93-8

Je to [(Z)-3-(2-chlor-9H-thioxanthen-9-yliden)propyl]dimethylamoniumchlorid<sup>1)</sup>.  
Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{18}H_{19}Cl_2NS$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, těžce rozpustný v dichlormethanu.

Taje při asi 220 °C.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a E.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *chlorprothixeniumchloridu CRL*.
- B.** 0,2 g se rozpustí ve směsi 5 ml *dioxanu R* a 5 ml roztoku *dusitanu sodného R* (1,5 g/l) a pak se přidá 0,8 ml *kyseliny dusičné R*. Po 10 min se tento roztok přidá ke 20 ml *vody R* a po 1 h stání se vzniklá sraženina odfiltruje. Filtrát se ihned použije ke zkoušce totožnosti C. Sraženina se zahřátím rozpustí v asi 15 ml *lihu 96% R* a roztok se přidá k 10 ml *vody R*. Sraženina se opět odfiltruje a suší se 2 h při 100 °C až 105 °C. Sraženina taje (2.2.14) při 152 °C až 154 °C.
- C.** K 1 ml filtrátu ze zkoušky B se přidá 0,2 ml suspenze 50 mg *červeně pravé B R* v 1 ml *lihu 96% R* a přidá se 1 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l RS*; vznikne tmavě červené zbarvení. Současně se provede slepá zkouška.

<sup>1)</sup> [(Z)-3-(2-chlor-9H-thioxanthen-9-yliden)propyl]dimethylamonium-chlorid

D. Asi 20 mg se rozpustí ve 2 ml *kyseliny dusičné R*; vznikne červené zbarvení. Potom se přidá 5 ml *vody R* a roztok se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm; roztok vykazuje zelenou fluorescenci.

E. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,25 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 25 ml.

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

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,4 až 5,2; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Zkouška se provede za ochrany před přímým světlem.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 20,0 mg *chlorprothixeniumchloridu CRL* (obsahujícího definovaný obsah *E*-izomeru) se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 3,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,12 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (3 μm nebo 5 μm),
- mobilní fáze, kterou je roztok obsahující *dihydrogenfosforečnan draselný R* (6,0 g/l), *laurylsíran sodný R* (2,9 g/l) a *tetrabutylamoniumbromid R* (9 g/l) ve směsi objemových dílů *methanolu R*, *acetonitrilu R* a *vody destilované R* (50 + 400 + 550). Průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Při průtoku mobilní fáze 1,5 ml/min se kolona promývá do ustavení rovnováhy po dobu asi 30 min.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 10 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní retenční čas *E*-izomeru vztažený k hlavnímu píku je asi 1,35 a retenční čas hlavního píku je asi 10 min.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času chlorprothixenu. Z chromatogramů zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a) se stanoví obsah *E*-izomeru v procentech za použití deklarovaného obsahu *E*-izomeru v *chlorprothixeniumchloridu CRL*. Obsah *E*-izomeru ve zkoušené látce je nejvýše 2,0 %. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku s relativním retenčním časem asi 1,55 (nečistota *E*) není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 % nečistoty *E*, počítáno na hodnotu odezvového faktoru 3); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, píku *E*-izomeru a píku nečistoty *E*, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, píku *E*-izomeru a píku nečistoty *E*, není větší než 2,33násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,7 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Těžké kovy** (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce F na těžké kovy (20 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 μg *Pb/ml*).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 3 h ve vakuu při 60 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

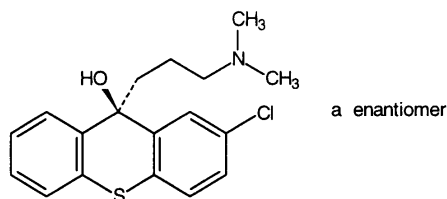
### Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 50 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

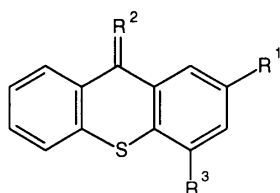
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 35,23 mg sloučeniny C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>2</sub>NS.

**Uchovávání**

Chráněn před světlem.  
Separandum.

**Nečistoty**

A. (*RS*)-2-chlor-9-[3-(dimethylamino)propyl]-9*H*-thioxanthen-9-ol,

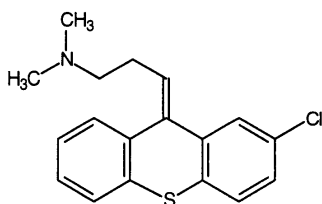


B.  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(CH}_3)_2$ ,  $R^3 = \text{H}$ : *N,N*-dimethyl-[3-(9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin<sup>2)</sup>,

C.  $R^1 = \text{Cl}$ ,  $R^2 = \text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_3$ ,  $R^3 = \text{H}$ : *N*-methyl-[(*Z*)-3-(2-chlor-9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin<sup>3)</sup>,

D.  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-N(CH}_3)_2$ ,  $R^3 = \text{Cl}$ : *N,N*-dimethyl-[(*Z*)-3-(4-chlor-9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin<sup>4)</sup>,

E.  $R^1 = \text{Cl}$ ,  $R^2 = \text{O}$ ,  $R^3 = \text{H}$ : 2-chlorthioxanthon,



F. *N,N*-dimethyl-[(*E*)-3-(2-chlor-9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin<sup>5)</sup> (*E*-izomer).

66

<sup>2)</sup> *N,N*-dimethyl-[3-(9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin

<sup>3)</sup> *N*-methyl-[(*Z*)-3-(2-chlor-9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin

<sup>4)</sup> *N,N*-dimethyl-[(*Z*)-3-(4-chlor-9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin

<sup>5)</sup> *N,N*-dimethyl-[(*E*)-3-(2-chlor-9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin

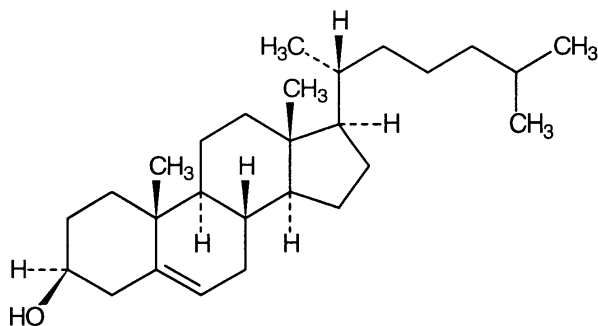
56. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Cholesterolum zní:

”

## Cholesterolum

Cholesterol

2001 



$C_{27}H_{46}O$

$M_r$  386,66

CAS 57-88-5

Je to 5-cholesten-3 $\beta$ -ol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje nejméně 95,0 % sloučeniny  $C_{27}H_{46}O$  a celkový obsah sterolů je 97,0 % až 103,0 %.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v acetonu a lihu 96%. Je citlivý na světlo.

### Zkoušky totožnosti

A. Teplota tání (2.2.14). 147 °C až 150 °C.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R. Roztoky se připraví těsně před použitím.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v dichlorethanu R a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg cholesterolu CRL se rozpustí v dichlorethanu R a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 20  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se ihned za ochrany před světlem směsí objemových dílů ethylacetatu R a toluenu R (33 + 66) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a třikrát se postříká chloridem antimonitým RS. Chromatogramy se pozorují 3 min až 4 min po postříku. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Asi 5 mg se rozpustí ve 2 ml *dichlormethanu R*, přidá se 1 ml *acetanhydridu R*, 0,01 ml *kyseliny sírové R* a protřepe se; vznikne růžové zbarvení, které se rychle mění na červené, potom na modré a nakonec na jasně zelené.

### Zkoušky na čistotu

**Rozpustnost v lihu 96%.** 0,5 g se v uzavřené nádobě rozpustí v 50 ml *lihu 96% R* při 50 °C a nechá se 2 h stát; netvoří se zákal ani usazenina.

**Kyselce reagující látky.** 1,0 g se rozpustí v 10 ml *etheru R*, přidá se 10,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* a asi 1 min se třepe. Směs se opatrně zahřívá do odpaření etheru a 5 min se vaří. Po ochlazení se přidá 10 ml *vody R*, 0,1 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se za stálého míchání *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* do vymizení růžového zbarvení. Proveďte se slepá zkouška. Rozdíl mezi spotřebou *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* potřebnou ke změně zbarvení indikátoru u slepé zkoušky a vlastní titrace není větší než 0,3 ml.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,3 %; 1,000 g se suší 4 h ve vakuu při 60 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *pregnenolonisobutyrate CRL* jako vnitřního standardu.

*Roztok vnitřního standardu.* 0,100 g *pregnenolonisobutyrate CRL* se rozpustí v *heptanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí v roztoku vnitřního standardu a zředí se jím na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 25,0 mg *cholesterolu CRL* se rozpustí v roztoku vnitřního standardu a zředí se jím na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kapilární křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřním povrchem pokrytým *polydimethylsiloxanem R* (tloušťka filmu 1,5 μm),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 6 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 260 °C, teplota nástřikového prostoru na 280 °C a detektoru na 290 °C.

Nastříkne se odděleně po 0,5 μl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku rozlišení mezi píkem odpovídajícím *pregnenolonisobutyrate* a píkem odpovídajícím 5-cholesten-3β-olu je nejméně 3,5.

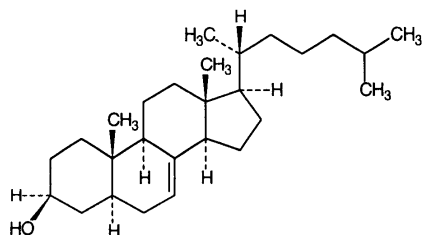
Vypočítá se procentuální obsah 5-cholesten-3β-olu za použití deklarovaného obsahu 5-cholesten-3β-olu v *cholesterolu CRL*.

Vypočítá se procentuální celkový obsah sterolů sečtením obsahu 5-cholesten-3β-olu a látek s retenčním časem stejným nebo menším než je 1,5násobek retenčního času 5-cholesten-3β-olu. Nepřihlíží se k píku roztoku vnitřního standardu a k píku rozpouštědla.

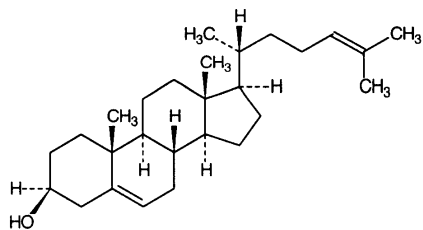
### Uchovávání

Chráněn před světlem.

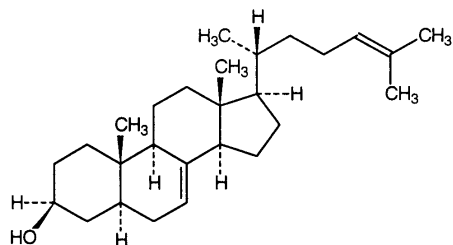
### Nečistoty



A. 7-cholesten-3β-ol (lathosterol),



B. 5,24-cholestadien-3β-ol (desmosterol),



C. 7,24-cholestadien-3β-ol.

“

57. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Cilastatinum natrium doplňují články Cilazaprilum monohydricum a Cimetidini hydrochloridum, které znějí:

”

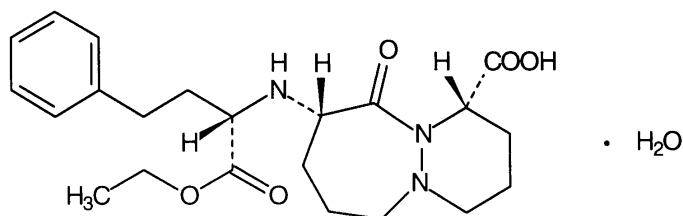
## † Cilazaprilum monohydricum

Monohdrát cilazaprilu

*Synonymum.* Cilazaprilum



2001



$C_{22}H_{31}N_3O_5 \cdot H_2O$

$M_r$  435,5

CAS 92077-78-6

Je to monohdrát kyseliny (1*S*,9*S*)-9-[[(*S*)-1-ethoxykarbonyl-3-fenylpropyl]amino]-10-oxo-oktahydro-6*H*-pyridazino-[1,2-*a*][1,2]diazepin-1-karboxylové. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{22}H_{31}N_3O_5$ .

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu a v dichlormethanu.

## Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) odpovídá spektru monohydrátu *cilazaprilu CRL*.

B. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

## Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-383^{\circ}$  až  $-399^{\circ}$ , stanoveno při 365 nm a počítáno na bezvodou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,200 g v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,067 mol/l)*, pokud je třeba za pomoci ultrazvuku, a zředěním stejným tlumivým roztokem na 50,0 ml.

**Nečistota A.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu proTLC R*.

*Zkoušený roztok.* 0,20 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 2 mg *cilazaprilu nečistoty A CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5 mg *cilazaprilu nečistoty A CRL* a 5 mg zkoušené látky se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Na vrstvu se nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R, vody R, hexanu R, methanolu R a ethylacetatu R* (5 + 5 + 15 + 15 + 60) po dráze 10 cm. Vrstva se 10 min suší v proudu studeného vzduchu, postříká se čerstvě připravenou směsí objemových dílů *jodobismutitanu draselného RS a kyseliny octové zředěné RS* (1 + 10) a poté *peroxidem vodíku zředěným RS*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není skvrna odpovídající nečistotě A intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže jsou na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) dvě zřetelně oddělené skvrny.

**Jiné příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se dále zředí mobilní fází na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10,0 mg *cilazaprilu nečistoty D CRL* se rozpustí ve zkoušeném roztoku a zředí se jím na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *triethylaminu R a vody R* (10 + 750), jejíž pH bylo upraveno na hodnotu 2,30 *kyselinou fosforečnou R* a k níž bylo přidáno 200 objemových dílů *tetrahydrofuranu R*; průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a) a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi pikem *cilazaprilu* a pikem nečistoty D na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je nejméně 2,5.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Je-li přítomna nečistota A (relativní retenční čas je 4 až 5), je třeba pokračovat, až je tato nečistota eluována. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené na *cilazapril*: nečistota B asi 0,6; nečistota D asi 0,9 a nečistota C asi 1,6. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku nečistoty D větší než 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %); plocha píku nečistoty B není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); plocha píku nečistoty C není větší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %); plocha jakéhokoliv píku, kromě hlavního píku a píků nečistot B, C a D, není větší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %); součet ploch

všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a k píku nečistoty A.

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 3,5 % až 5,0 %; stanoví se s 0,300 g zkoušené látky.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí v 10 ml *ethanolu R*, přidá se 50 ml *vody R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Provede se slepá zkouška.

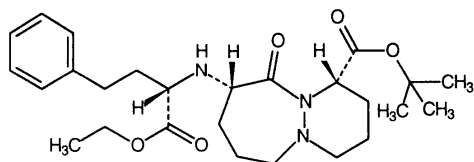
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 41,75 mg sloučeniny  $C_{22}H_{31}N_3O_5$ .

### Uchovávání

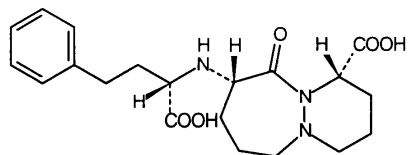
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

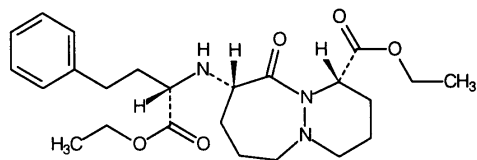
### Nečistoty



A. *tert.*butyl-(1*S*,9*S*)-9-([(*S*)-1-ethoxykarbonyl-3-fenylpropyl]amino)-10-oxo-oktahydro-6*H*-pyridazino[1,2-*a*][1,2]diazepin-1-karboxylát<sup>1)</sup>,



B. kyselina (1*S*,9*S*)-9-([(*S*)-3-fenyl-1-karboxypropyl]amino)-10-oxo-oktahydro-6*H*-pyridazino[1,2-*a*][1,2]diazepin-1-karboxylová,

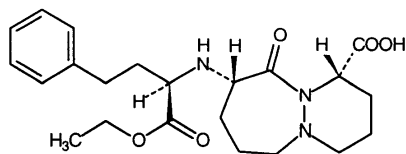


C. ethyl-(1*S*,9*S*)-9-([(*S*)-1-ethoxykarbonyl-3-fenylpropyl]amino)-10-oxo-oktahydro-6*H*-pyridazino[1,2-*a*][1,2]diazepin-1-karboxylát<sup>2)</sup>,

<sup>1)</sup> *tert.*butyl-(1*S*,9*S*)-9-([(*S*)-1-ethoxykarbonyl-3-fenylpropyl]amino)-10-oxo-oktahydro-6*H*-pyridazino[1,2-*a*][1,2]diazepin-1-karboxylát

<sup>2)</sup> ethyl-(1*S*,9*S*)-9-([(*S*)-1-ethoxykarbonyl-3-fenylpropyl]amino)-10-oxo-oktahydro-6*H*-pyridazino[1,2-*a*][1,2]diazepin-1-karboxylát



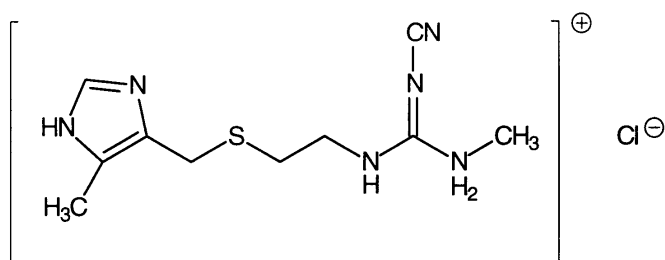


D. kyselina (1*S*,9*S*)-9-[[*R*]-1-ethoxykarbonyl-3-fenylpropyl]amino}-10-oxo-oktahydro-6*H*-pyridazino-[1,2-*a*][1,2]diazepin-1-karboxylová.

## † Cimetidini hydrochloridum

Cimetidiniumchlorid

2001



$C_{10}H_{17}ClN_6S$

$M_r$  288,80

CAS 70059-30-2

Je to 2-kyan-1-methyl-3-{2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]thio}ethyl}guanidiniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{10}H_{17}ClN_6S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v ethanolu.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- 70 mg se rozpustí v *kyselině sírové* 0,2 mol/l *RS* a zředí se jí na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *kyselinou sírovou* 0,2 mol/l *RS* na 100,0 ml a měří se absorbance (2.2.25) v absorpčním maximu při 218 nm. Specifická absorbance v maximu je 650 až 705.
- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *cimetidiniumchloridu* *CRL*.
- Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce *Příbuzné látky*, viz *Zkoušky na čistotu*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá zbarvením, polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).
- Asi 1 mg se rozpustí ve směsi 1 ml *ethanolu* *R* a 5 ml čerstvě připraveného roztoku *kyseliny citronové* *R* (20 g/l) v *acetanhydridu* *R*. Směs se zahřívá 10 min až 15 min na vodní lázni; vzniká červenofialové zbarvení.

<sup>1)</sup> 2-kyan-1-methyl-3-(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]sulfanyl}ethyl}guanidinium-chlorid

E. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 3,0 g se rozpustí ve 12 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $\check{Z}_5$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,0 až 5,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 100 mg ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

**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).* 0,50 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).* 2 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 100 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 5 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 10 mg *cimetidiniumchloridu CRL* se rozpustí ve 2 ml *methanolu R*.

A. Na vrstvu se odděleně nanese po 4  $\mu$ l každého roztoku a vrstva se nechá 15 min stát v komoře nasycené parami mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *ethylacetatu R* (15 + 20 + 65), a ihned se vyvíjí stejnou směsí po dráze 15 cm. Vrstva se usuší proudem studeného vzduchu a poté se vystaví účinku par jodu do získání kontrastních skvrn. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %) a nejvýše dvě takové skvrny jsou intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je zřetelně viditelná skvrna.

B. Na vrstvu se odděleně nanese po 4  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *ethylacetatu R* (8 + 8 + 84) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší proudem studeného vzduchu a vystaví se účinku par jodu do získání kontrastních skvrn. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %) a nejvýše dvě takové skvrny jsou intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je zřetelně viditelná skvrna.

**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 1,0 %; 1,000 g se suší 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

0,200 g se rozpustí ve směsi 5 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 (2.2.20) bodu ekvivalence do druhé inflexe. Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

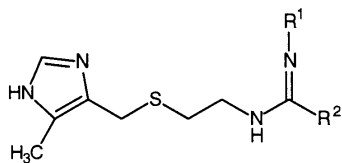
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 28,88 mg  $C_{10}H_{17}ClN_6S$ .

### Uchovávání

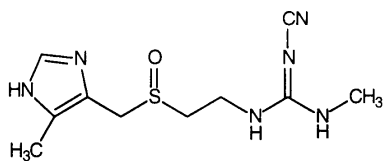
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

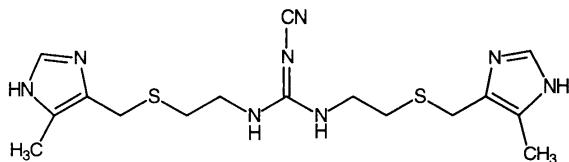
## Nečistoty



- A.  $R^1 = \text{CN}$ ,  $R^2 = \text{SCH}_3$ : 3-kyan-2-methyl-1-(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]thio]ethyl]isothioimočovina<sup>2)</sup>,  
 B.  $R^1 = \text{CN}$ ,  $R^2 = \text{OCH}_3$ : 3-kyan-2-methyl-1-(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]thio]ethyl]isomočovina<sup>3)</sup>,  
 C.  $R^1 = \text{CONH}_2$ ,  $R^2 = \text{NHCH}_3$ : 1-((methylamino)[[2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]thio]ethyl]amino]methylen}močovina<sup>4)</sup>,  
 D.  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{NHCH}_3$ : 1-methyl-3-(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]thio]ethyl]guanidin<sup>5)</sup>,



- E. 2-kyan-1-methyl-3-(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]sulfinyl]ethyl]guanidin<sup>6)</sup>,



- F. 2-kyan-1,3-bis(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]thio]ethyl]guanidin<sup>7)</sup>.

“

<sup>2)</sup> 3-kyan-2-methyl-1-(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]sulfonyl]ethyl]isothioimočovina

<sup>3)</sup> 3-kyan-2-methyl-1-(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]sulfonyl]ethyl]isomočovina

<sup>4)</sup> 1-((methylamino)[(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]sulfonyl]ethyl]amino]methylen}močovina

<sup>5)</sup> 1-methyl-3-(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]sulfonyl]ethyl]guanidin

<sup>6)</sup> 2-kyan-1-methyl-3-(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]sulfonyl]ethyl]guanidin

<sup>7)</sup> 2-kyan-1,3-bis(2-[[5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]sulfonyl]ethyl]guanidin

58. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Cinchonae cortex* doplňuje článek *Cinnamomi cassiae etheroleum*, který zní:

”

## Cinnamomi cassiae etheroleum

Silice skořicovníku čínského

*Synonymum.* *Cinnamomi cassiae aetheroleum*



Je to silice získaná z listů a mladých větví druhu *Cinnamomum cassia* BLUME (*C. aromaticum* NEES) destilací s vodní parou.

### Vlastnosti

Žlutá až červenohnědá čirá pohyblivá kapalina, charakteristického pachu připomínajícího skořicový aldehyd.

### Zkoušky totožnosti

*Základní zkouška:* B.

*Alternativní zkouška:* A.

**A.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 0,5 ml zkoušené látky se rozpustí v acetonu R a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 50 µl cinnamaldehydu R, 10 µl eugenolu R a 50 mg kumarinu R se rozpustí v acetonu R a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů methanolu R a toluenu R (10 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Modře fluoreskující skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a zbarvením skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (kumarin). Vrstva se postříká anisaldehydem RS. Suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní části fialová skvrna (eugenol) a nad ní zelenomodrá skvrna (cinnamaldehyd). Skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a zbarvením skvrně cinnamaldehydu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Skvrna odpovídající eugenolu je jen velmi slabá. Kromě toho jsou přítomny ještě další slabé skvrny.

**B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Chromatografický profil, viz Zkoušky na čistotu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku retenční časy hlavních píků odpovídají retenčním časům hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku. Eugenol může na chromatogramu zkoušeného roztoku chybět.

### Zkoušky na čistotu

**Relativní hustota** (2.2.5). 1,052 až 1,070.

**Index lomu** (2.2.6). 1,600 až 1,614.

**Optická otáčivost** (2.2.7).  $-1^\circ$  až  $+1^\circ$ .

**Chromatografický profil.** Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28).

*Zkoušený roztok.* Zkoušená látka.

*Porovnávací roztok.* 100 µl cinnamaldehydu R, 10 µl cinnamylacetatu R, 10 µl eugenolu R, 20 mg kumarinu R a 10 µl 2-methoxycinnamaldehydu R se rozpustí v 1 ml acetonu R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 60 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1,5 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1/100,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost ohřevu (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 10	60	2	izotermicky lineární gradient izotermicky
	10 - 75	60 → 190		
	75 - 160	190		
nástříkový prostor detektor		200		
		240		

Nastříkne se 0,2 µl porovnávacího roztoku. Při dodržení předepsaných podmínek eluují jednotlivé látky v pořadí uvedeném ve složení porovnávacího roztoku. Zaznamenají se retenční časy těchto látek.

Zkoušku lze hodnotit pouze v případě, je-li rozlišení pík kumarinu a 2-methoxycinnamaldehydu nejméně 1,5.

Nastříkne se 0,2 µl zkoušeného roztoku. Porovnáním retenčních časů pík na chromatogramu zkoušeného roztoku s retenčními časy pík na chromatogramu porovnávacího roztoku se identifikují látky, které jsou přítomny ve zkoušeném roztoku. Obsah jednotlivých látek v procentech se stanoví metodou normalizace.

Obsah látek v procentech se pohybuje v rozmezí:

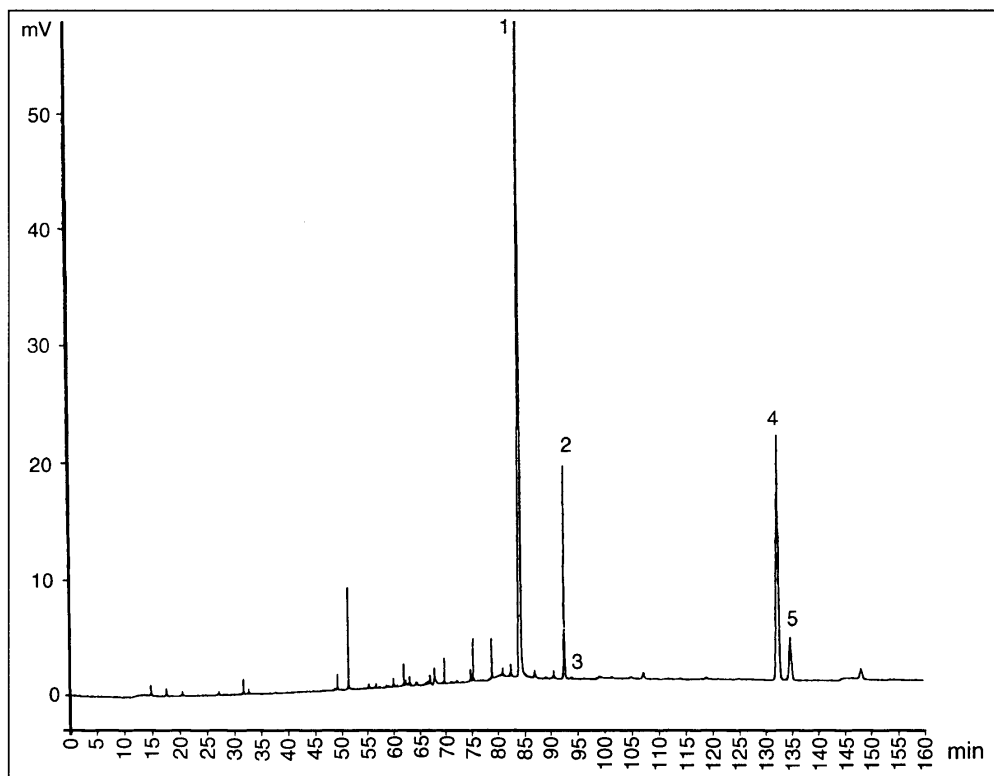
cinnamaldehyd:	70,0 % až 90,0 %,
cinnamylacetat:	1,0 % až 6,0 %,
eugenol:	méně než 0,5 %,
kumarin:	1,5 % až 4,0 %,
2-methoxycinnamaldehyd:	3,0 % až 15 %.

### Uchovávání

Ve zcela naplněných vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem a teplem.

*Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.*

V závislosti na podmínkách chromatografické analýzy a stavu kolony může kumarin eluovat před nebo za 2-metoxycinnamaldehydem.



**Obr. 1.** Vzorový chromatogram silice skořicovníku čínského pro zkoušku chromatografický profil  
1 = cinnamaldehyd, 2 = cinnamylacetat, 3 = eugenol, 4 = 2-metoxycinnamaldehyd, 5 = kumarin.

59. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Cinnamomi etheroleum zní:

”

## Cinnamomi ceylanici corticis etheroleum

Silice kůry skořicovníku cejlonského

*Synonymum.* Cinnamomi zeylanici corticis aetheroleum, Cinnamomi etheroleum



2001

Je to silice získaná z kůry výhonků druhu *Cinnamomum ceylanicum* NEES (*C. verum* J. S. PRESL.) destilací s vodní parou.

### Vlastnosti

Světle žlutá časem červenající čirá pohyblivá kapalina, charakteristického pachu připomínajícího skořicový aldehyd.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní zkouška: A.

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 1 ml zkoušené látky se rozpustí v acetonu R a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 50 µl cinnamaldehydu R, 10 µl eugenolu R, 10 µl linalolu R a 10 µl β-karyofylenu R se rozpustí v lihu 96 % R a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl každého roztoku. Vyvíjí se směs objemových dílů methanolu R a toluenu R (10 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se anisaldehydem RS, suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.

B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Chromatografický profil, viz Zkoušky na čistotu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku retenční časy hlavních píků odpovídají retenčním časům píků na chromatogramu porovnávacího roztoku. Safrol, kumarin a cineol mohou na chromatogramu zkoušeného roztoku chybět.

### Zkoušky na čistotu

**Relativní hustota** (2.2.5). 1,000 až 1,030.

**Index lomu** (2.2.6). 1,572 až 1,591.

**Optická otáčivost** (2.2.7).  $-2^{\circ}$  až  $+1^{\circ}$ .

**Chromatografický profil.** Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28).

*Zkoušený roztok.* Zkoušená látka.

*Porovnávací roztok.* 10 µl cineolu R, 10 µl linalolu R, 10 µl β-karyofylenu R, 10 µl safrolu R, 100 µl cinnamaldehydu R, 10 µl eugenolu R, 20 mg kumarinu R, 10 µl 2-methoxycinnamaldehydu R a 10 µl benzylbenzoátu R se rozpustí v 1 ml acetonu R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 60 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou makrogolem 20 000 R,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1,5 ml/min,

- plamenoionizačního detektoru,
  - dělicího poměru 1/100,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost ohřevu (°C/min)	Poznámky
kolona	0 - 10	60	2	izotermicky
	10 - 75	60 → 190		lineární gradient
	75 - 200	190		izotermicky
nástříkový prostor detektor		200		
		240		

Nastříkne se 0,2 µl porovnávacího roztoku. Při dodržení předepsaných podmínek eluují jednotlivé látky v pořadí uvedeném ve složení porovnávacího roztoku. Zaznamenají se retenční časy těchto látek.

Zkoušku lze hodnotit pouze v případě, je-li rozlišení píků linalolu a β-karyofyleny nejméně 1,5.

Nastříkne se 0,2 µl zkoušeného roztoku. Porovnáním retenčních časů píků na chromatogramu zkoušeného roztoku s retenčními časy píků na chromatogramu porovnávacího roztoku se identifikují látky, které jsou přítomny ve zkoušeném roztoku. Obsah jednotlivých látek v procentech se stanoví metodou normalizace.

Obsah látek v procentech se pohybuje v rozmezí:

cineol:	méně než 3,0 %,
linalol:	1,0 % až 6,0 %,
β-karyofylen:	1,0 % až 4,0 %,
safrol:	méně než 0,5 %,
cinnamaldehyd:	55 % až 75 %,
eugenol:	méně než 7,5 %,
kumarin:	méně než 0,5 %,
2-methoxycinnamaldehyd:	0,1 % až 1,0 %,
benzylbenzoat:	méně než 1,0 %.

### Uchovávání

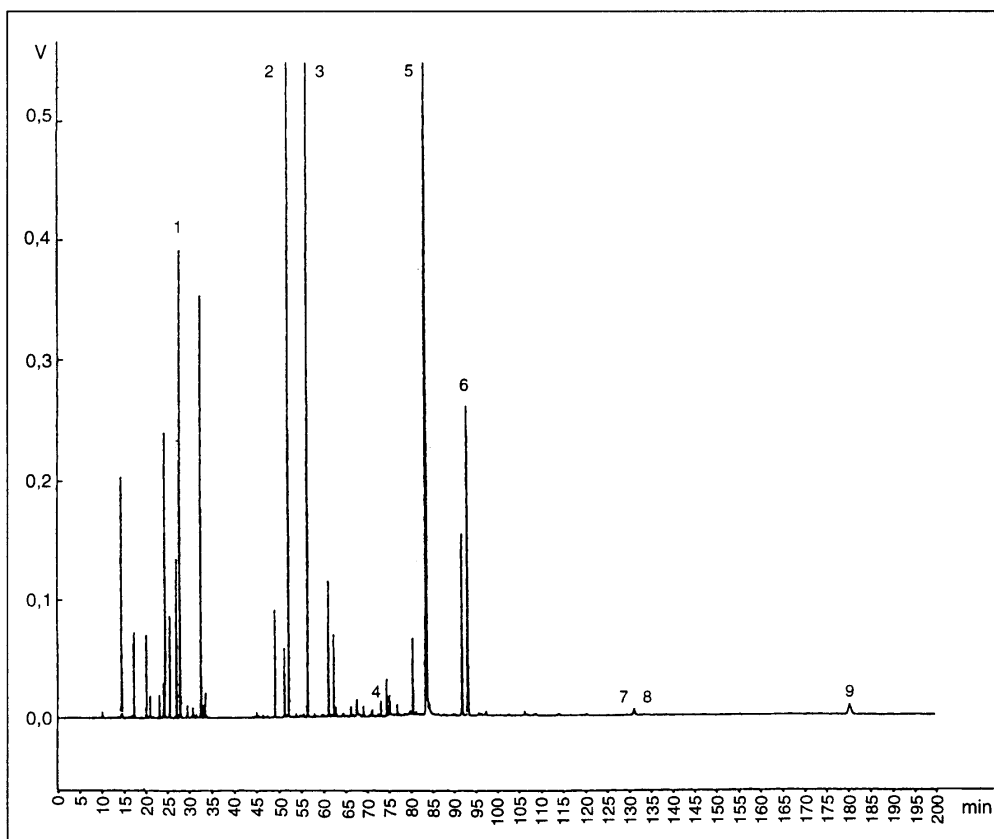
Ve zcela naplněných vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem a teplem.



*Následující vzor chromatogramu je uveden pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.*

1 = cineol, 2 = linalol, 3 =  $\beta$ -karyofylen, 4 = safrol, 5 = cinnamaldehyd, 6 = eugenol,  
7 = 2-methoxycinnamaldehyd, 8 = kumarin, 9 = benzylbenzoat

V závislosti na podmínkách chromatografické analýzy a stavu kolony může kumarin eluovat před nebo za 2-methoxycinnamaldehydem.



**Obr. 1** Vzorový chromatogram silice kůry skořicovníku cejlonského pro zkoušku chromatografický profil.

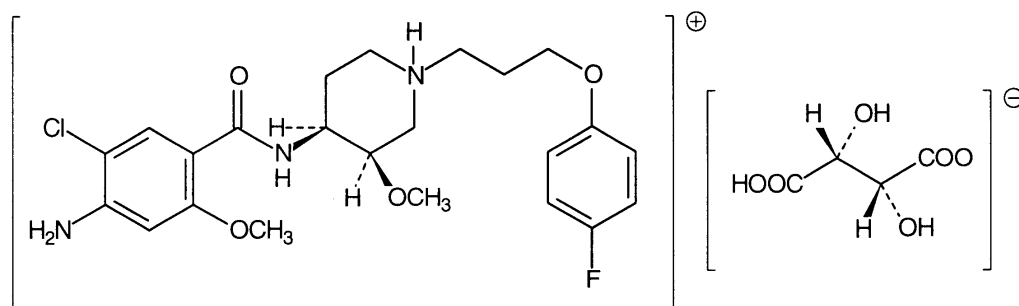
60. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Ciprofloxacini hydrochloridum doplňuje článek Cisapridi hydrogenotartras, který zní:

”

## † Cisapridi hydrogenotartras

Cisapridiumhydrogentartarat

*Synonymum.* Cisapridi tartaras



a enantiomer

$C_{27}H_{35}ClFN_3O_{10}$

$M_r$  616,03

CAS 2000-02-08

Je to (3*RS*,4*SR*)-4-[(4-amino-5-chlor-2-methoxybenzoyl)amino]-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidinium-(2*R*,3*R*)-hydrogen-2,3-dihydroxybutandioat<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{27}H_{35}ClFN_3O_{10}$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dimethylformamidu, těžce rozpustný v methanolu, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Vyazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *cisapridiumhydrogentartaratu* CRL. Pokud se spektra látek v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v minimálním množství lihu 96% R, odpaří se do sucha v proudu vzduchu a se zbytky se zaznamenají nová spektra.
- B.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

<sup>1)</sup> (3*RS*,4*SR*)-4-[(4-amino-5-chlor-2-methoxybenzoyl)amino]-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidinium-(2*R*,3*R*)-hydrogen-2,3-dihydroxybutandioát

## Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $+5,0^\circ$  až  $+10,0^\circ$ , počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,100 g v *methanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 0,100 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (10 + 90), v případě potřeby mírným zahřátím a zředí se stejnou směsí rozpouštědlem na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 5,0 mg *cisapridiumhydrogentartaratu CRL* a 30,0 mg *haloperidolu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (10 + 90) a zředí se jí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (10 + 90) na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (10 + 90) na 20,0 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  $\mu\text{m}$ ),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,2 ml/min:
  - mobilní fáze A - roztok *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu R* (20 g/l),
  - mobilní fáze B - *methanol R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 20	80 → 55	20 → 45	lineární gradient
20 - 21	55 → 5	45 → 95	přepnutí na další krok
21 - 25	5	95	izokratická eluce
25 - 26	5 → 80	95 → 20	přepnutí na původní podmínky
26 - 30	80	20	ustalování
30 = 0	80	20	začátek dalšího gradientu

- spektrofotometrického detektoru, 275 nm.

Kolona se ustaluje nejméně 5 min mobilní fází o počátečním složení.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 10  $\mu\text{l}$  byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: *cisapridu* asi 15 min a *haloperidolu* asi 16 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *cisapridu* a *haloperidolu* je nejméně 2,5. Pokud je to nutné, upraví se koncentrace *methanolu* v mobilní fázi nebo program lineárního gradientu.

Nastříkne se odděleně 10  $\mu\text{l}$  směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (10 + 90) jako slepá zkouška, 10  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 10  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům získaným při slepé zkoušce a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 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

0,500 g se rozpustí v 70 ml *kyseliny octové ledové 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 61,60 mg  $\text{C}_{27}\text{H}_{35}\text{ClFN}_3\text{O}_{10}$ .

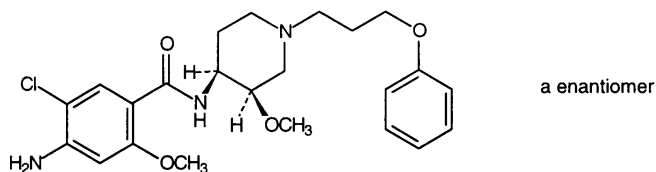
**Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

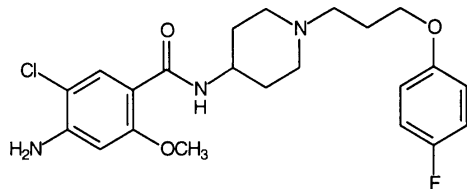
**Nečistoty**

Kvalifikované nečistoty: A, C.

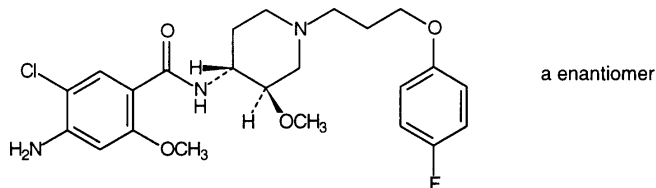
Jiné detegovatelné nečistoty: B, D, E.



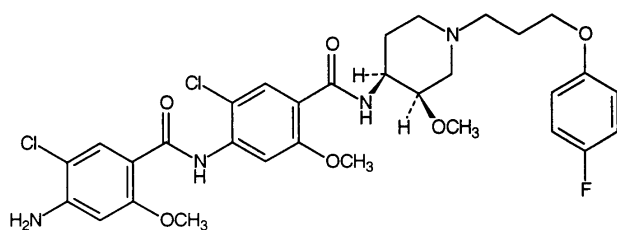
A. 4-amino-5-chlor-N-[(3RS,4SR)-1-(3-fenoxypropyl)-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid<sup>2)</sup>,



B. 4-amino-5-chlor-N-[1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]piperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid<sup>3)</sup>,



C. 4-amino-5-chlor-N-[(3RS,4SR)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid<sup>4)</sup>,



a enantiomer

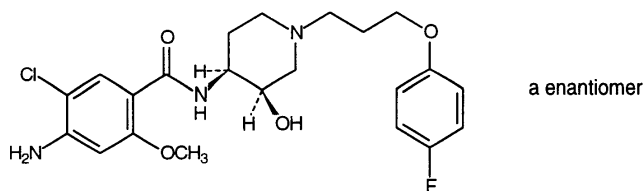
D. 4-[(4-amino-5-chlor-2-methoxybenzoyl)amino]-5-chlor-N-[(3RS,4SR)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid<sup>5)</sup>

<sup>2)</sup> 4-amino-5-chlor-N-[(3RS,4SR)-1-(3-fenoxypropyl)-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid

<sup>3)</sup> 4-amino-5-chlor-N-[1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]piperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid

<sup>4)</sup> 4-amino-5-chlor-N-[(3RS,4SR)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid

<sup>5)</sup> 4-[(4-amino-5-chlor-2-methoxybenzoyl)amino]-5-chlor-N-[(3RS,4SR)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid



E. 4-amino-5-chlor-N-[(3*R*,4*S*)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-hydroxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid<sup>6)</sup>.

66

61. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Cisapridum zní:

”

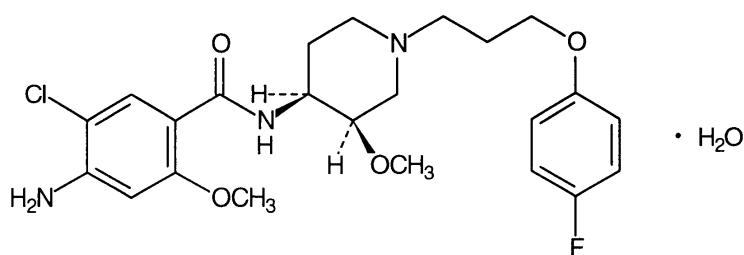
## † Cisapridum monohydricum

Monohdrát cisapridu

*Synonymum.* Cisapridum



2001



a enantiomer

C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>ClFN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O

*M*<sub>r</sub> 483,97

CAS 81098-60-4

Je to monohdrát 4-amino-5-chlor-N-[(3*R*,4*S*)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>ClFN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dimethylformamidu, dobře rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v methanolu.

Vykazuje polymorfismus.

<sup>6)</sup> 4-amino-5-chlor-N-[(3*R*,4*S*)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-hydroxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid

<sup>1)</sup> monohdrát 4-amino-5-chlor-N-[(3*R*,4*S*)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid

## Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *monohydrátu cisapridu CRL*. Pokud se spektra látek v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v minimálním množství *methanolu R*, odpaří se do sucha v proudu vzduchu a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,20 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>6</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Optická otáčivost** (2.2.7).  $-0,1^\circ$  až  $+0,1^\circ$ ; měří se úhel optické otáčivosti roztoku 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).** 5,0 mg *monohydrátu cisapridu CRL* a 40,0 mg *haloperidolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (3  $\mu\text{m}$ ),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,2 ml/min:
  - *mobilní fáze A* - roztok *tetrabutylamoniumhydrogensulfátu R* (20 g/l),
  - *mobilní fáze B* - *methanol R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 20	80 → 55	20 → 45	lineární gradient
20 - 21	55 → 5	45 → 95	přepnutí na další krok
21 - 25	5	95	izokratická eluce
25 - 26	5 → 80	95 → 20	přepnutí na původní podmínky
26 - 30	80	20	ustalování
30 = 0	80	20	začátek dalšího gradientu

- spektrofotometrického detektoru, 275 nm.

Kolona se ustaluje nejméně 5 min mobilní fází o počátečním složení.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 10  $\mu\text{l}$  byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: *cisapridu* asi 15 min a *haloperidolu* asi 16 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *cisapridu* a *haloperidolu* je nejméně 2,5. Pokud je to nutné, upraví se koncentrace *methanolu* v mobilní fázi nebo program lineárního gradientu.

Nastříkne se odděleně 10  $\mu\text{l}$  *methanolu R* jako slepá zkouška, 10  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 10  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k píkům získaným při slepé zkoušce a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 3,4 % až 4,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky v platinovém kelímku.

## Stanovení obsahu

0,350 g se rozpustí v 70 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7) a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 46,60 mg  $C_{23}H_{29}ClFN_3O_4$ .

## Uchovávání

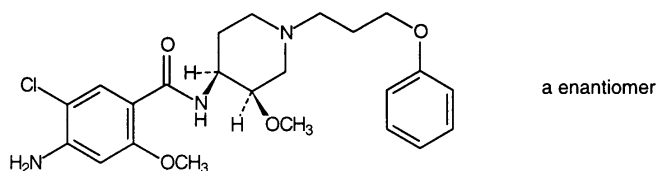
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

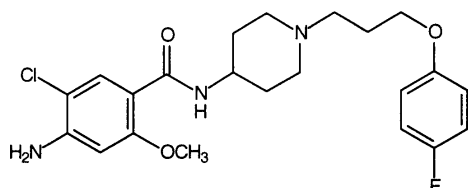
## Nečistoty

*Kvalifikované nečistoty: A, B, C, E.*

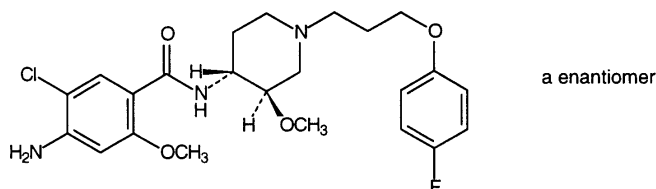
*Jiné detegovatelné zjistitelné nečistoty: D.*



A. 4-amino-5-chlor-N-[(3*RS*,4*SR*)-1-(3-fenoxypropyl)-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid<sup>2)</sup>,



B. 4-amino-5-chlor-N-{1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]piperidin-4-yl}-2-methoxybenzamid<sup>3)</sup>,

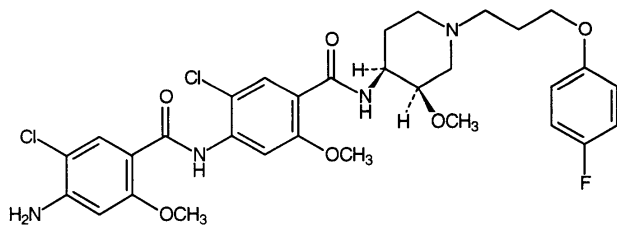


C. 4-amino-5-chlor-N-[(3*RS*,4*SR*)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid<sup>4)</sup>,

<sup>2)</sup> 4-amino-5-chlor-N-[(3*RS*,4*SR*)-1-(3-fenoxypropyl)-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid

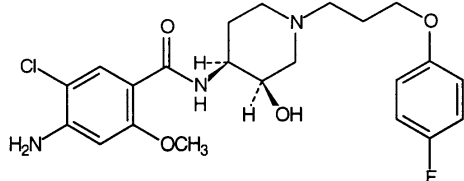
<sup>3)</sup> 4-amino-5-chlor-N-{1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]piperidin-4-yl}-2-methoxybenzamid

<sup>4)</sup> 4-amino-5-chlor-N-[(3*RS*,4*SR*)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid



a enantiomer

D. 4-[(4-amino-5-chlor-2-methoxybenzoyl)amino]-5-chlor-N-[(3*RS*,4*SR*)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid<sup>5)</sup>,



a enantiomer

E. 4-amino-5-chlor-N-[(3*RS*,4*SR*)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-hydroxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid<sup>6)</sup>.

“

62. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Coffeinum monohydricum doplňuje článek Colae semen, který zní:

”

## Colae semen

Kolové semeno

*Synonymum.* Semen colae



Je to celé nebo lámané usušené semeno druhu *Cola nitida* (VENT.) SCHOTT et ENDL. (*C. vera* K. SCHUM.) a jeho odrůd, nebo druhu *Cola acuminata* (P. BEAUV.) SCHOTT et ENDL. (*Sterculia acuminata* P. BEAUV.) zbavené osemení. Obsahuje nejméně 1,5 % kofeinu (*M<sub>r</sub>* 194,2), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

<sup>5)</sup> 4-[(4-amino-5-chlor-2-methoxybenzoyl)amino]-5-chlor-N-[(3*RS*,4*SR*)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-methoxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid

<sup>6)</sup> 4-amino-5-chlor-N-[(3*RS*,4*SR*)-1-[3-(4-fluorfenoxy)propyl]-3-hydroxypiperidin-4-yl]-2-methoxybenzamid



## Zkoušky totožnosti

- A.** Semeno je oválné, poněkud zaokrouhleně čtyřhranné s deformacemi způsobenými vzájemným otlakem uvnitř plodu; je různé velikosti a hmotnosti, od 5 g do 15 g; zevní strana je tvrdá hladká a silně tmavě hnědá, uvnitř červeno-hnědá. U druhu *C. nitida* a jeho odrůd tvoří semeno dvě většinou ploskovypuklé části odpovídající dělohám, v komerční droze se vyskytují obvykle odděleně; dělohy jsou 3 cm až 4 cm dlouhé, 2 cm až 2,5 cm široké a 1 cm až 2 cm silné. U druhu *C. acuminata* jsou dělohy menší, rozdělené do čtyř až šesti nepravidelných částí.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je červenohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *glycerolu R 50% (V/V)*. Droga je charakteristická těmito znaky: četná vejčitá nebo ledvinovitá škrobová zrna velikosti 5 μm až 25 μm, se soustředěným vrstvením a paprčitým, mírně mimo střed ležícím hilem; úlomky pletiv děloh s velkými ztlustlými načervenalými mnohohrannými buňkami, naplněnými škrobovými zrny; někdy úlomky osemení.
- C.** 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 práškované drogy (355) se smíchá s 5 ml *lihu 60% (V/V) R*. Protřepává se 30 min při 40 °C a zfiltruje se.  
*Porovnávací roztok (a).* 25 mg *kofeinu R* se rozpustí se v 10 ml *lihu 60% (V/V) R*.  
*Porovnávací roztok (b).* 50 mg *theobrominu R* se rozpustí v 10 ml směsi objemových dílů *vody R*, *methanolu R* a *ethylacetatu R* (10 + 13 + 77) a zfiltruje se.  
Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů 20 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *methanolu R* a *ethylacetatu R* (10 + 13 + 77) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 5 min na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě hlavní skvrny, zhášející fluorescenci, které odpovídají polohou skvrnám na chromatogramech porovnávacích roztoků (a) a (b). Vrstva se postříká směsí stejných objemových dílů *lihu 96% R* a *kyseliny chlorovodíkové R* a pak roztokem připraveným bezprostředně před použitím rozpuštěním 1 g *jodu R* a 1 g *jodidu draselného R* ve 100 ml *lihu 96% R*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku červenohnědá hlavní skvrna odpovídá polohou a zbarvením skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

## Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi** (2.8.2). Vyhovuje požadavkům zkoušky Cizí příměsi.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 2,00 g práškované drogy (355) se suší 2 hod v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel** (2.4.16). Nejvýše 9,0 %.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 1,00 g (*m<sub>1</sub>*) práškované drogy (355) se smíchá s 50 ml *methanolu R*, vaří se 30 min na vodní lázni pod zpětným chladičem a po ochlazení se zfiltruje. Filtr se promyje 10 ml *methanolu R*, zbytek se smíchá s 50 ml *methanolu R* a předchozí postup se opakuje. Spojené filtráty a promývací tekutiny se v 200,0 ml odměrné baňce zředí *methanolem R* na 200,0 ml. 20,0 ml tohoto roztoku se v baňce s kulatým dnem odpaří za sníženého tlaku do sucha. Zbytek po odpaření se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 30,0 mg (*m<sub>2</sub>*) *kofeinu R* a 15,0 mg *theobrominu R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *methanolu R* a *vody R* (25 + 75); při průtokové rychlosti 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 272 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se vhodný objem každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku rozlišení mezi píky odpovídajícími kofeinu a teobrominu je nejméně 2,5. Je-li třeba, upraví se objem vody *R* v mobilní fázi.

Obsah kofeinu se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{m_2 \cdot A_1 \cdot 50}{m_1 \cdot A_2},$$

v němž značí:

$A_1$  - plochu píku kofeinu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

$A_2$  - plochu píku kofeinu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$m_1$  - navážku drogy v gramech,

$m_2$  - navážku kofeinu *R* v porovnávacím roztoku v gramech.

### Uchovávání

V dobře uzavřeném obalu, chráněno před světlem.

“

63. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Colecalciferoli pulvis, Colecalciferolum, Colecalciferolum densatum oleosum a Colecalciferolum in aqua dispergibile znějí:

”

## †† Colecalciferoli pulvis

Cholecalciferol prášek

*Synonymum.* Cholecalciferoli pulvis

2001



Je to prášková forma cholecalciferolu (*Colecalciferolum*) připravená dispergováním jeho olejového roztoku ve vhodném základu, který obvykle obsahuje želatinu a cukry vhodné jakosti, schválená oprávněnou autoritou.

Deklarovaný obsah cholecalciferolu je nejméně 100 000 m.j. v 1 gramu. Obsahuje 90,0 % až 110,0 % obsahu uvedeného v označení na obalu. Může obsahovat vhodné stabilizátory, např. antioxidanty.

### Vlastnosti

Bílý nebo žlutavě bílý prášek, jehož malé částice v závislosti na přípravě mohou být prakticky nerozpustné ve vodě, mohou bobtnat nebo tvořit disperzi.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* A a C.

*Alternativní sestava zkoušek:* A a B, viz *Obecné zásady* (1.2).

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

*Zkoušený roztok. Připraví se těsně před použitím.* 10,0 ml zkoušeného roztoku připraveného ve zkoušce Stanovení obsahu se převede do vhodné baňky a ve vodní lázni při 40 °C za sníženého tlaku a stálého otáčení se odpaří do

sucha. Ochladí se pod tekoucí vodou a za použití  *dusíku R*  se obnoví atmosférický tlak. Zbytek po odpaření se ihned rozpustí v 0,4 ml  *dichlorethanu R* , který obsahuje  *squalan R*  (10 g/l) a  *butylhydroxytoluen R*  (0,1 g/l).

*Porovnávací roztok (a). Připraví se těsně před použitím.*  10 mg  *cholekalciferolu CRL*  se rozpustí v  *dichlorethanu R* , který obsahuje  *squalan R*  (10 g/l) a  *butylhydroxytoluen R*  (0,1 g/l) a zředí se stejným rozpouštědlem na 4 ml.

*Porovnávací roztok (b). Připraví se těsně před použitím.*  10 mg  *ergokalciferolu CRL*  se rozpustí v  *dichlorethanu R* , který obsahuje  *squalan R*  (10 g/l) a  *butylhydroxytoluen R*  (0,1 g/l), a zředí se jím na 4 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 20 µl každého roztoku a ihned se vyvíjí za ochrany před světlem po dráze 15 cm směsí stejných objemových dílů  *cyklohexanu R*  a  *etheru prostého peroxidů R* ; směs obsahuje  *butylhydroxytoluen R*  (0,1 g/l). Po vysušení na vzduchu se vrstva postříká  *kyselinou sírovou R* . Porovná se hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku s hlavními skvrnami na chromatogramech porovnávacích roztoků (a) a (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je ihned patrná jasně žlutá hlavní skvrna, která se rychle zbarvuje na oranžovo-hnědou a potom její zbarvení přechází na zelenošedé, které je stále asi 10 min. Tato skvrna je polohou, zbarvením a velikostí shodná se skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je ve stejné poloze hlavní skvrna, jejíž oranžové zbarvení se postupně mění na červenohnědé, stále asi 10 min.

**B.** 5,0 ml zkoušeného roztoku připraveného ve zkoušce Stanovení obsahu se odpaří ve vhodné baňce do sucha za sníženého tlaku a otáčení ve vodní lázni při 40 °C. Po ochlazení pod tekoucí vodou se obnoví atmosférický tlak  *dusíkem R* . Zbytek se ihned rozpustí v 50,0 ml  *cyklohexanu R*  a měří se absorbance (2.2.25) při 250 nm až 300 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 265 nm.

**C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčním časem hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

## Stanovení obsahu

*Zkouška se provede co nejrychleji a za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem.*

*Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).*

*Zkoušený roztok.*  Do baňky se převede množství zkoušeného přípravku, odvážené s přesností 0,1 %, odpovídající asi 100 000 m.j. Přidá se 5 ml  *vody R* , 20 ml  *ethanolu R* , 1 ml  *askorbanu sodného RS*  a 3 ml čerstvě připraveného roztoku  *hydroxidu draselného R*  (50 %). Zahřívá se 30 min na vodní lázni pod zpětným chladičem a rychle se ochladí pod tekoucí vodou. Tekutina se převede do dělicí nálevky pomocí dvakrát 15 ml  *vody R* , 10 ml  *lihu 96% R*  a dvakrát 50 ml  *pentanu R* . Silně se třepe 30 s a nechá se stát, dokud se vrstvy nevyčteří. Spodní vodně-lihová vrstva se převede do druhé dělicí nálevky a třepe se směsí 10 ml  *lihu 96% R*  a 50 ml  *pentanu R* . Po oddělení vrstev se vodně-lihová vrstva převede do třetí dělicí nálevky a pentanová vrstva se převede do první dělicí nálevky, přičemž se druhá dělicí nálevka promyje dvakrát 10 ml  *pentanu R*  a ten se přidá do první dělicí nálevky. Vodně-lihová vrstva se protřepe s 50 ml  *pentanu R*

a pentanová vrstva se rovněž převede do první dělicí nálevky. Spojené pentanové vrstvy se promyjí dvakrát 50 ml čerstvě připraveného roztoku  *hydroxidu draselného R*  (30 g/l) v  *lihu R*  10 % (V/V). Pentanová vrstva se silně protřepává opakovaně 50 ml  *vody R*  tak dlouho, až promývací voda dává neutrální reakci na fenolftalein. Pentanová vrstva se převede do baňky se zabroušenou zátkou, odpaří se do sucha za sníženého tlaku a otáčení ve vodní lázni 40 °C teplé. Potom se ochladí pod tekoucí vodou a atmosférický tlak se vyrovná  *dusíkem R* . Zbytek se ihned rozpustí v 5,0 ml  *toluenu R*  a přidá se 20,0 ml mobilní fáze, aby se získal roztok obsahující asi 4000 m.j. v mililitru.

*Porovnávací roztok (a).*  10,0 mg  *cholekalciferolu CRL*  se bez zahřívání rozpustí v 10,0 ml  *toluenu R*  a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).*  1,0 g  *cholekalciferolu pro test způsobilosti CRL*  se rozpustí v 5,0 ml mobilní fáze. Roztok se zahřívá ve vodní lázni při 90 °C pod zpětným chladičem po dobu 45 min a ochladí se.

*Porovnávací roztok (c).*  0,10 g  *cholekalciferolu CRL*  se bez zahřívání rozpustí v  *toluenu R*  a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).*  5,0 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí mobilní fází na 50,0 ml. Roztok se udržuje ve vodě s ledem.

*Porovnávací roztok (e).*  5,0 ml porovnávacího roztoku (c) se převede do odměrné baňky, přidá se asi 10 mg  *butylhydroxytoluen R*  a odstraní se vzduch z baňky  *dusíkem R* . Zahřívá se ve vodní lázni při 90 °C pod zpětným chladičem pod  *dusíkem R*  a za ochrany před světlem po dobu 45 min. Po ochlazení 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 a naplněné vhodným silikagelem (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *pentanolu R* a *hexanu R* (3 + 997), s průtokovou rychlostí 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se pomocí automatického dávkovače nebo pomocí injektorové smyčky vhodný objem porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nástřík se opakuje šestkrát. Pokud jsou chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, jsou přibližné relativní retenční časy, vzhledem k cholekalciferolu následující: 0,4 pro pre-chole-kalciferol a 0,5 pro *trans*-cholekalci ferol. Relativní směrodatná odchylka odezvy pro cholekalciferol není větší než 1 % a rozlišení mezi píky pre-cholekalci ferolu a *trans*-cholekalci ferolu není menší než 1,0. Je-li třeba, upraví se složení a průtoková rychlost mobilní fáze tak, aby bylo dosaženo uvedeného rozlišení.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (d) a (e) a zaznamenají se chromatogramy. Vypočítá se přepočítací faktor (*f*) podle vzorce:

$$f = \frac{K - L}{M},$$

v němž značí:

- K* - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d),
- L* - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (e),
- M* - plochu (nebo výšku) píku pre-cholekalci ferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (e).

Hodnota *f* stanovená dvakrát v různé dny může být použita během celého postupu.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se stejný objem zkoušeného roztoku a zaznamená se chromatogram stejným způsobem.

Obsah cholekalciferolu v mezinárodních jednotkách na gram se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{m'}{V'} \cdot \frac{V}{m} \cdot \frac{S_D + (f \cdot S_P)}{S'_D} \cdot 40\,000 \cdot 1000,$$

v němž značí:

- m* - hmotnost zkoušeného přípravku ve zkoušeném roztoku v miligramech,
- m'* - hmotnost *cholekalci ferolu CRL* v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,
- V* - objem zkoušeného roztoku (25 ml),
- V'* - objem porovnávacího roztoku (a) (100 ml),
- S<sub>D</sub>* - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- S'<sub>D</sub>* - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),
- S<sub>P</sub>* - plochu (nebo výšku) píku pre-cholekalci ferolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- f* - přepočítací faktor.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných dobře naplněných obalech, chráněn před světlem. Obsah otevřených obalů se použije co nejdříve; nespotebovaná část se uchovává v atmosféře dusíku.

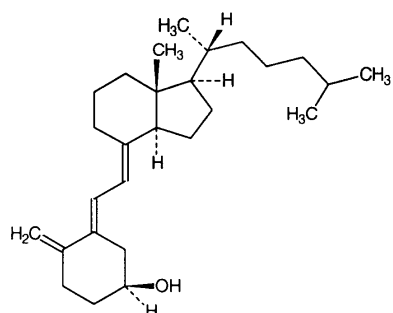
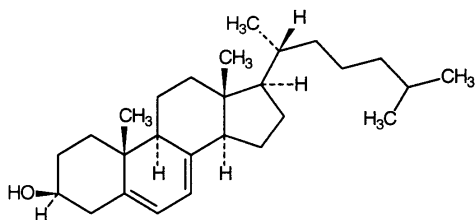
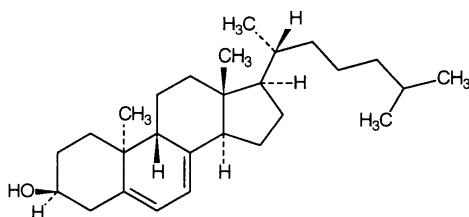
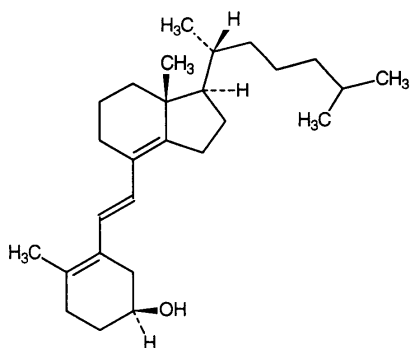
Venenum.

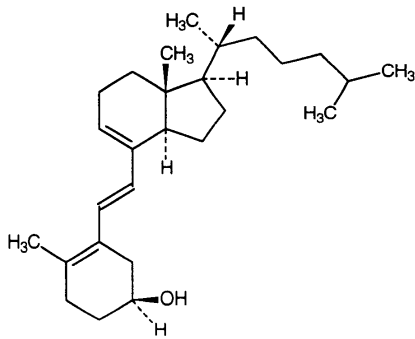
## Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek na gram,
- název přidaných stabilizátorů.

## Nečistoty

A. (5*E*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-3β-ol (*trans*-cholecalciferol, *trans*-vitamin D<sub>3</sub>),B. cholesta-5,7-dien-3β-ol (7-dehydrocholesterol, provitamin D<sub>3</sub>),C. (9β,10α)-cholesta-5,7-dien-3β-ol (lumisterol<sub>3</sub>),D. (6*E*)-9,10-sekokocholesta-5(10),6,8(14)-trien-3β-ol (iso-tachysterol<sub>3</sub>),

E. (6E)-9,10-sekokocholesta-5(10),6,8-trien-3β-ol (tachysterol<sub>3</sub>).

## †† Colecalciferolum densatum oleosum

Olejový roztok cholecalciferolu

*Synonymum.* Cholecalciferolum densatum oleosum



2001

Je to roztok cholecalciferolu (*Colecalciferolum*) ve vhodném rostlinném oleji, schválený oprávněnou autoritou.

Deklarovaný obsah cholecalciferolu je nejméně 500 000 m.j. v 1 gramu. Roztok obsahuje 90,0 % až 110,0 % obsahu uvedeného v označení na obalu. Může obsahovat vhodné stabilizátory, např. antioxidanty.

### Vlastnosti

Čirá žlutá tekutina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v ethanolu, mísitelný s rozpouštědly tuků. V závislosti na teplotě se může částečně vyskytnout pevná hmota.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* A a C.

*Alternativní sestava zkoušek:* A a B, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R. Roztoky dále uvedené se připraví bezprostředně před použitím.

*Zkoušený roztok.* Množství odpovídající 400 000 m.j. se rozpustí v dichlorethanu R, obsahujícím squalan R (10 g/l) a butylhydroxytoluen R (0,1 g/l), a zředí se stejným rozpouštědlem na 4 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg cholecalciferolu CRL se rozpustí v dichlorethanu R, obsahujícím squalan R (10 g/l) a butylhydroxytoluen R (0,1 g/l), a zředí se stejným rozpouštědlem na 4 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg ergokalciferolu CRL se rozpustí v dichlorethanu R, obsahujícím squalan R (10 g/l) a butylhydroxytoluen R (0,1 g/l), a zředí se stejným rozpouštědlem na 4 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 20 μl každého roztoku a vyvíjí se ihned za ochrany před světlem po dráze 15 cm směsí stejných objemových dílů cyklohexanu R a etheru prostého peroxidů R. Směs obsahuje butylhydroxytoluen R (0,1 g/l). Po vysušení na vzduchu se vrstva postříká kyselinou sírovou R. Porovná se hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku s hlavními skvrnami na chromatogramech porovnávacích roztoků (a) a (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je okamžitě patrná jasně žlutá hlavní skvrna rychle měnící zbarvení na oranžovohnědé a postupně na zelenošedé, stále asi 10 min. Tato skvrna se polohou, zbarvením a velikostí shoduje se skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je ihned patrná ve stejné poloze hlavní skvrna, jejíž oranžové zbarvení se postupně mění na červenohnědé, stále asi 10 min.

**B.** Připraví se roztok v cyklohexanu R obsahující množství odpovídající asi 400 m.j. na mililitr a měří se absorbance (2.2.25) při 250 nm až 300 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 267 nm.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčním časem hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

### Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 5,0 g rozpuštěnými v 25 ml předepsané směsi rozpouštědel.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 20.

### Stanovení obsahu

*Zkouška se provede co nejrychleji a za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem.*

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* Množství zkoušeného přípravku, odvážené s přesností 0,1 %, odpovídající asi 400 000 m.j. se rozpustí v 10,0 ml toluenu R a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10,0 mg cholekalciferolu CRL se bez zahřívání rozpustí v 10,0 ml toluenu R a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml cholekalciferolu pro test způsobilosti CRL se zředí mobilní fází na 5,0 ml. Roztok se zahřívá ve vodní lázni při 90 °C pod zpětným chladičem po dobu 45 min a ochladí se.

*Porovnávací roztok (c).* 0,10 g cholekalciferolu CRL se bez zahřívání rozpustí v toluenu R a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí mobilní fází na 50,0 ml. Roztok se udržuje ve vodě s ledem.

*Porovnávací roztok (e).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (c) se převede do odměrné baňky, přidá se asi 10 mg butylhydroxytoluenu R a odstraní se vzduch z baňky dusíkem R. Zahřívá se ve vodní lázni při 90 °C pod zpětným chladičem pod dusíkem R a za ochrany před světlem po dobu 45 min. Po ochlazení 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 vhodným silikagelem (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů pentanolu R a hexanu R (3 + 997) s průtokovou rychlostí 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se pomocí automatického dávkovače nebo pomocí injektorové smyčky vhodný objem porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nástřík se opakuje šestkrát. Pokud jsou chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, jsou přibližné relativní retenční časy, vzhledem k cholekalciferolu, následující: 0,4 pro pre-cholekalciferol a 0,5 pro *trans*-cholekalciferol. Relativní směrodatná odchylka odezvy pro cholekalciferol není větší než 1 % a rozlišení mezi píky pre-cholekalciferolu a *trans*-cholekalciferolu není menší než 1,0. Je-li třeba, upraví se složení a průtoková rychlost mobilní fáze tak, aby bylo dosaženo uvedeného rozlišení.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (d) a (e) a zaznamenají se chromatogramy. Vypočítá se přeop-  
čítací faktor (*f*) podle vzorce:

$$f = \frac{K - L}{M},$$

v němž značí:

*K* - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d),

*L* - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (e),

*M* - plochu (nebo výšku) píku pre-cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (e).

Hodnota *f* stanovená dvakrát v různé dny může být použita během celého postupu.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se stejný objem zkoušeného roztoku a zaznamená se chromatogram stejným způsobem.

Obsah cholekalciferolu v mezinárodních jednotkách na gram se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{m'}{V'} \cdot \frac{V}{m} \cdot \frac{S_D + (f \cdot S_P)}{S'_D} \cdot 40\,000 \cdot 1000,$$

v němž značí:

- $m$  - hmotnost přípravku ve zkoušeném roztoku v miligramech,  
 $m'$  - hmotnost *cholecalciferolu* CRL v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,  
 $V$  - objem zkoušeného roztoku (100 ml),  
 $V'$  - objem porovnávacího roztoku (a) (100 ml),  
 $S_D$  - plochu (nebo výšku) píku *cholecalciferolu* na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $S'_D$  - plochu (nebo výšku) píku *cholecalciferolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),  
 $S_p$  - plochu (nebo výšku) píku *pre-cholecalciferolu* na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $f$  - přepočítací faktor.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných dobře naplněných obalech, chráněn před světlem. Obsah otevřených obalů se použije co nejdříve; nespotebovaná část se uchovává v atmosféře dusíku.

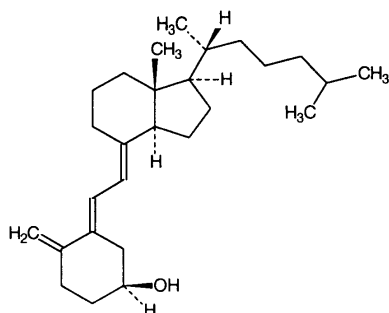
Venenum.

### Označování

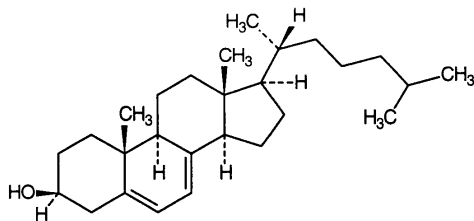
V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek na gram,
- metoda převedení do roztoku částečně vzniklé pevné hmoty,
- název přidaného stabilizátoru.

### Nečistoty

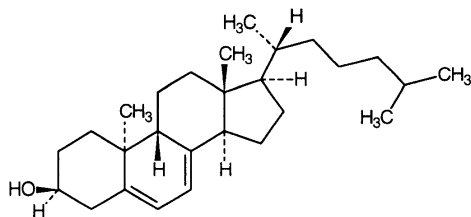
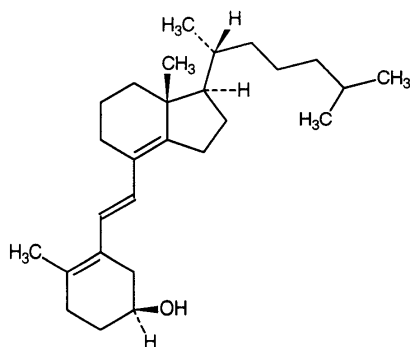
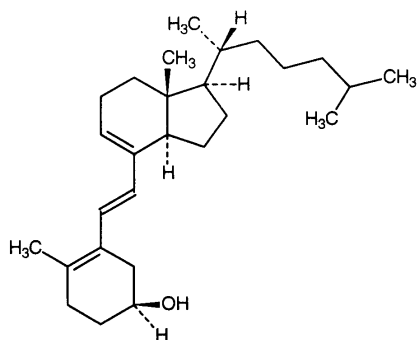


A. (5*E*,7*E*)-9,10-sekosterole-5,7,10(19)-trien-3β-ol (*trans*-cholecalciferol, *trans*-vitamin D<sub>3</sub>),



B. cholesta-5,7-dien-3β-ol (7-dehydrocholesterol, provitamin D<sub>3</sub>),



C. (9β,10α)-cholesta-5,7-dien-3β-ol (lumisterol<sub>3</sub>),D. (6E)-9,10-sekokocholesta-5(10),6,8(14)-trien-3β-ol (iso-tachysterol<sub>3</sub>),E. (6E)-9,10-sekokocholesta-5(10),6,8-trien-3β-ol (tachysterol<sub>3</sub>).

## †† Colecalciferolum in aqua dispergibile

Cholekalciferol dispergovatelny ve vodě

*Synonymum.* Cholecalciferolum in aqua dispergibile



Je to koncentrovaný roztok (vodou dispergovatelná forma) cholekalciferolu (*Colecalciferolum*) ve vhodném rostlinném oleji, schválený oprávněnou autoritou, s přidavkem vhodných solubilizátorů.

Deklarovaný obsah cholekalciferolu je nejméně 100 000 m.j. v 1 gramu. Obsahuje 90,0 % až 115,0 % obsahu uvedeného v označení na obalu. Může obsahovat vhodné stabilizátory, např. antioxidanty.

## Vlastnosti

Slabě nažloutlá tekutina proměnlivé opalescence a viskozity. Vysoce koncentrované roztoky se mohou zakalit při nízkých teplotách nebo tvořit gel při pokojové teplotě.

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, C a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*. Roztoky dále uvedené se připraví bezprostředně před použitím.

*Zkoušený roztok.* 10,0 ml zkoušeného roztoku připraveného ve zkoušce Stanovení obsahu se ve vhodné nádobě odpaří do sucha za sníženého tlaku a otáčení ve vodní lázni při 40 °C. Po ochlazení v tekoucí vodě se obnoví atmosférický tlak *dušíkem R*. Zbytek se ihned rozpustí v 0,4 ml *dichlorethanu R* obsahujícího *squalan R* (10 g/l) a *butylhydroxytoluen R* (0,1 g/l).

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg *cholecalciferolu CRL* se rozpustí v *dichlorethanu R* obsahujícím *squalan R* (10 g/l) a *butylhydroxytoluen R* (0,1 g/l) a zředí se stejným rozpouštědlem na 4 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg *ergocalciferolu CRL* se rozpustí v *dichlorethanu R* obsahujícím *squalan R* (10 g/l) a *butylhydroxytoluen R* (0,1 g/l) a zředí se stejným rozpouštědlem na 4 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 20 µl každého roztoku a vyvíjí se ihned za ochrany před světlem po dráze 15 cm směsí stejných objemových dílů *cyklohexanu R* a *etheru prostého peroxidů R*. Směs obsahuje *butylhydroxytoluen R* (0,1 g/l). Po vysušení na vzduchu se vrstva postříká *kyselinou sírovou R*. Porovná se hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku s hlavními skvrnami na chromatogramech porovnávacích roztoků (a) a (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je patrna jasně žlutá hlavní skvrna rychle měnící zbarvení na oranžovohnědé a postupně na zelenošedé, stálé asi 10 min. Tato skvrna je polohou, barvou a velikostí shodná se skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je ve stejné poloze hlavní skvrna, jejíž oranžové zbarvení se postupně mění na červenohnědé, stálé asi 10 min.

**B.** 5,0 ml zkoušeného roztoku připraveného ve zkoušce Stanovení obsahu se odpaří ve vhodné nádobě do sucha za sníženého tlaku a otáčení ve vodní lázni při 40 °C. Po ochlazení pod tekoucí vodou se obnoví atmosférický tlak *dušíkem R*. Zbytek se ihned rozpustí v 50,0 ml *cyklohexanu R* a měří se absorbance (2.2.25) při 250 nm až 300 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 265 nm.

**C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčním časem hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**D.** Asi 1 g se smíchá s 10 ml *vody R* zahřáté na 50 °C a ochladí se na 20 °C. Bezprostředně po ochlazení se tvoří stejnorodá slabá opalescence a slabě žlutá disperze.

## Stanovení obsahu

*Zkouška se provede co nejrychleji a za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem.*

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* Do baňky se převede množství zkoušeného přípravku, odvážené s přesností 0,1 %, odpovídající asi 100 000 m.j. Přidá se 5 ml *vody R*, 20 ml *ethanolu R*, 1 ml *askorbanu sodného RS* a 3 ml čerstvě připraveného roztoku *hydroxidu draselného R* (50 %). Zahřívá se 30 min na vodní lázni pod zpětným chladičem a rychle se ochladí pod tekoucí vodou. Tekutina se převede do dělicí nálevky pomocí dvakrát 15 ml *vody R*, 10 ml *lihu 96% R* a dvakrát 50 ml *pentanu R*. Silně se třepe 30 s a nechá se stát, dokud se vrstvy nevyčejí. Spodní vodně-lihová vrstva se přenesení do druhé dělicí nálevky a třepe se směsí 10 ml *lihu 96% R* a 50 ml *pentanu R*. Po oddělení vrstev se vodně-lihová vrstva převede do třetí dělicí nálevky a pentanová vrstva se převede do první dělicí nálevky, přičemž se druhá dělicí nálevka promyje dvakrát 10 ml *pentanu R* a ten se přidá do první dělicí nálevky. Vodně-lihová vrstva se protřepe s 50 ml *pentanu R* a pentanová vrstva se rovněž převede do první dělicí nálevky. Spojené pentanové vrstvy se promyjí dvakrát silným protřepáním s 50 ml čerstvě připraveného roztoku *hydroxidu draselného R* (30 g/l) v *lihu R* 10 % (V/V). Pentanová vrstva se opakovaně silně protřepává 50 ml *vody R* tak dlouho, až promývací voda dává neutrální reakci na fenolftalein.

Pentanová vrstva se převede do baňky se zabroušenou zátkou, odpaří se do sucha za sníženého tlaku a otáčení ve vodní lázni 40 °C teplé. Potom se ochladí pod tekoucí vodou a atmosférický tlak se vyrovná dusíkem R. Zbytek se ihned rozpustí v 5,0 ml toluenu R a přidá se 20,0 ml mobilní fáze, aby se získal roztok obsahující asi 4000 m.j. v 1 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10,0 mg cholekalciferolu CRL se bez zahřívání rozpustí v 10,0 ml toluenu R a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 g cholekalciferolu pro test způsobilosti CRL se rozpustí v 5,0 ml mobilní fáze. Roztok se zahřívá ve vodní lázni při 90 °C pod zpětným chladičem po dobu 45 min a ochladí se.

*Porovnávací roztok (c).* 0,10 g cholekalciferolu CRL se bez zahřívání rozpustí v toluenu R a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí mobilní fází na 50,0 ml. Roztok se udržuje ve vodě s ledem.

*Porovnávací roztok (e).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (c) se převede do odměrné baňky na 50,0 ml, přidá se 10 mg butylhydroxytoluenu R a odstraní se vzduch z baňky dusíkem R. Zahřívá se ve vodní lázni při 90 °C pod zpětným chladičem pod dusíkem R a za chránění před světlem po dobu 45 min. Po ochlazení 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 vhodným silikagelem (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů pentanolu R a hexanu R (3 + 997) s průtokovou rychlostí 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se pomocí automatického dávkovače nebo pomocí injektorové smyčky vhodný objem porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nástřík se opakuje šestkrát. Pokud jsou chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, jsou přibližné relativní retenční časy vzhledem k cholekalciferolu, následující: 0,4 pro pre-cholekal-ciferol a 0,5 pro *trans*-cholekal-ciferol. Relativní směrodatná odchylka odezvy pro cholekalciferol není větší než 1 % a rozlišení pro píky pre-cholekal-ciferolu a *trans*-cholekal-ciferolu není menší než 1,0. Je-li třeba, upraví se složení a průtoková rychlost mobilní fáze tak, aby bylo dosaženo uvedeného rozlišení.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (d) a (e) a zaznamenají se chromatogramy. Vypočítá se přepočítací faktor (*f*) podle vzorce:

$$f = \frac{K - L}{M},$$

v němž značí:

*K* - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d),

*L* - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (e),

*M* - plochu (nebo výšku) píku pre-cholekal-ciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (e).

Hodnota *f* stanovená dvakrát v různé dny může být použita během celého postupu.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se stejný objem zkoušeného roztoku a zaznamená se chromatogram stejným způsobem.

Obsah cholekalciferolu v mezinárodních jednotkách na gram se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{m'}{V'} \cdot \frac{V}{m} \cdot \frac{S_D + (f + S_p)}{S'_D} \cdot 40\,000 \cdot 1000,$$

v němž značí:

*m* - hmotnost zkoušeného přípravku ve zkoušeném roztoku v miligramech,

*m'* - hmotnost cholekalciferolu CRL v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,

*V* - objem zkoušeného roztoku (25 ml),

*V'* - objem porovnávacího roztoku (a) (100 ml),

*S<sub>D</sub>* - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

*S'<sub>D</sub>* - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),

*S<sub>p</sub>* - plochu (nebo výšku) píku pre-cholekal-ciferolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

*f* - přepočítací faktor.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných dobře naplněných obalech, chráněna před světlem a při teplotě uvedené v označení na obalu. Obsah otevřených obalů se použije co nejdříve; nespotřebovaná část se uchovává v atmosféře inertního plynu, např. dusíku.

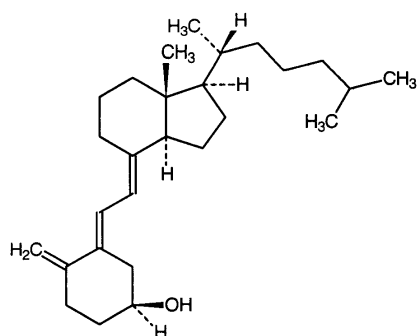
Venenum.

## Označování

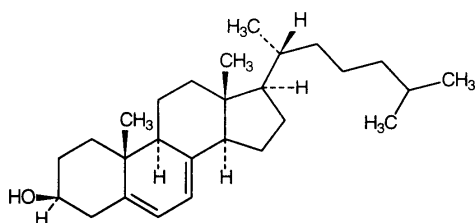
V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek na gram,
- název hlavního použitého solubilizátoru nebo solubilizátorů a název přidaných stabilizátorů,
- teplota uchovávání.

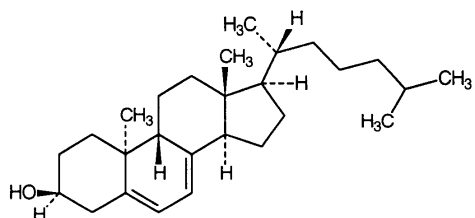
## Nečistoty



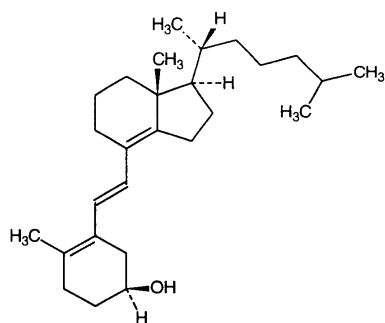
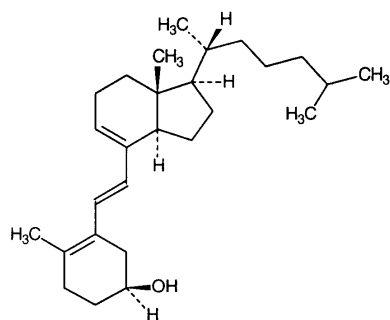
A. (5*E*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-3β-ol (*trans*-cholecalciferol, *trans*-vitamin D<sub>3</sub>),



B. cholesta-5,7-dien-3β-ol (7-dehydrocholesterol, provitamin D<sub>3</sub>),



C. (9β,10α)-cholesta-5,7-dien-3β-ol (lumisterol<sub>3</sub>),

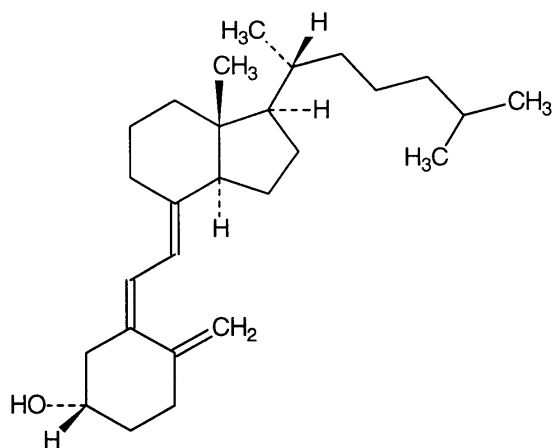
D. (6*E*)-9,10-sekokocholesta-5(10),6,8(14)-trien-3β-ol (iso-tachysterol<sub>3</sub>),E. (6*E*)-9,10-sekokocholesta-5(10),6,8-trien-3β-ol (tachysterol<sub>3</sub>).

## †† Colecalciferolum

Cholecalciferol

Synonyma. Cholecalciferolum, vitamin D<sub>3</sub>

2001

C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O

M, 384,64

CAS 67-97-0

Je to (5*Z*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-3β-ol. Obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O. 1 mg cholecalciferolu odpovídá 40 000 m.j. antirachitické účinnosti (vitamin D) na potkanech.

## Vlastnosti

Bílé nebo téměř bílé krystaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, dobře rozpustný v mastných olejích. Vlivem vzduchu, tepla a světla se rozkládá. Roztoky v těkavých rozpouštědlech jsou nestálé a připravují se v čas potřeby.

V roztoku dochází k reverzibilní izomerizaci na pre-cholecalciferol v závislosti na teplotě a času. Účinné jsou obě sloučeniny.

## Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *cholecalciferolu CRL*.

## Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +105° až +112°; měří se roztok do 30 min po následující přípravě: 0,200 g se rychle a bez zahřívání rozpustí v lihu 96% *prostém aldehydů R* a zředí se jím na 25,0 ml.

## Stanovení obsahu

*Zkouška se provede co nejrychleji a za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem.*

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 10,0 mg se rozpustí bez zahřívání v 10,0 ml *toluenu R* a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10,0 mg *cholecalciferolu CRL* se bez zahřívání rozpustí v 10,0 ml *toluenu R* a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml *cholecalciferolu pro test způsobilosti CRL* se zředí mobilní fází na 5,0 ml. Roztok se zahřívá ve vodní lázni při 90 °C pod zpětným chladičem po dobu 45 min a ochladí se.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné vhodným silikagelem (5 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 2 ml/min, která je směsí objemových dílů *pentanolu R* a *hexanu R* (3 + 997),
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se pomocí automatického dávkovače nebo pomocí injektorové smyčky vhodný objem porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nástřík se opakuje šestkrát. Pokud jsou chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, jsou přibližné relativní retenční časy, vzhledem k cholecalciferolu, následující: 0,4 pro pre-cholecalciferol a 0,5 pro *trans*-cholecalciferol. Relativní směrodatná odchylka odezvy pro cholecalciferol není větší než 1 % a rozlišení mezi píky pre-cholecalciferolu a *trans*-cholecalciferolu není menší než 1,0. Je-li třeba, upraví se složení a průtoková rychlost mobilní fáze tak, aby bylo dosaženo uvedeného rozlišení.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se stejný objem zkoušeného roztoku a zaznamená se chromatogram stejným způsobem.

Obsah cholecalciferolu v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{m'}{m} \cdot \frac{S_D}{S'_D} \cdot 100,$$

v němž značí:

$m$  - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku v miligramech,

$m'$  - hmotnost *cholecalciferolu CRL* v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,

$S_D$  - plochu (nebo výšku) píku cholecalciferolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

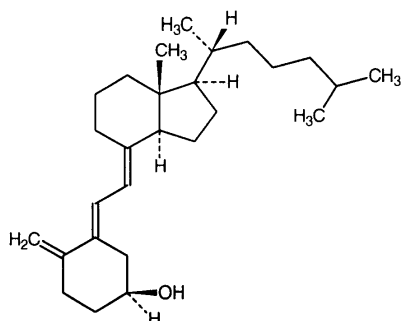
$S'_D$  - plochu (nebo výšku) píku cholecalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Uchovávání**

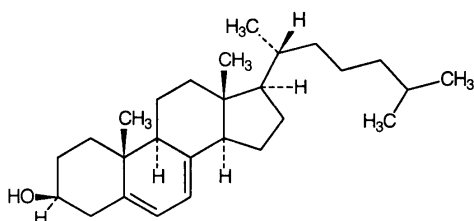
Ve vzduchotěsných obalech v atmosféře dusíku, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

Obsah otevřených obalů se ihned spotřebuje.

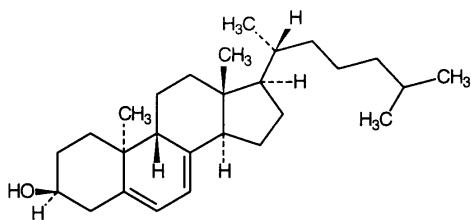
Venenum.

**Nečistoty**

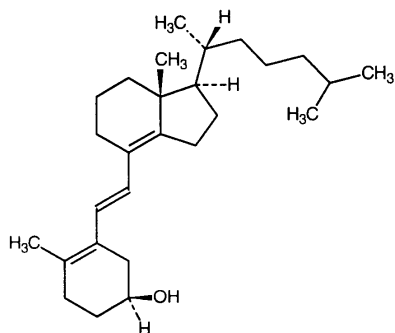
A. (5*E*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-3β-ol (*trans*-cholecalciferol, *trans*-vitamin D<sub>3</sub>),



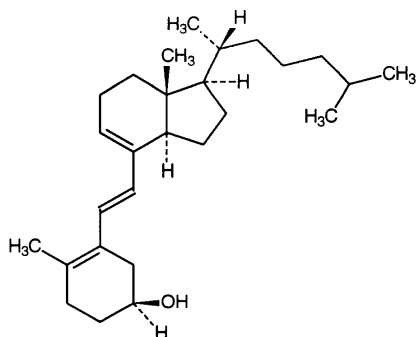
B. cholesta-5,7-dien-3β-ol (7-dehydrocholesterol, provitamin D<sub>3</sub>),



C. (9β,10α)-cholesta-5,7-dien-3β-ol (lumisterol<sub>3</sub>),



D. (6*E*)-9,10-sekokocholesta-5(10),6,8(14)-trien-3β-ol (iso-tachysterol<sub>3</sub>),



E. (6E)-9,10-sekosterol-5(10),6,8-trien-3β-ol (tachysterol<sub>3</sub>).

“

64. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Cyclophosphamidum doplňuje článek Cynosbati pseudo-fructus, který zní:

”

## Cynosbati pseudo-fructus

Šípek

*Synonyma.* Fructus cynosbati, Rosae pseudo-fructus



2001

Je to usušený nepravý plod se zbytky suchého kalicha druhu *Rosa canina* L., *R. pendulina* L. a jiných druhů rodu *Rosa* zbavené nažek.

Obsahuje nejméně 0,3 % kyseliny askorbové ( $C_6H_8O_6$ ;  $M_r$  176,1), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A.** Úlomky dužnaté češule se zbytky redukovaného kalicha. Češule je světle růžová až oranžově růžová, svrchní strana vypouklá, lesklá, silně svařštělá, vnitřní strana světlejší s roztroušenými pentlicovitými chlupy.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je oranžově žlutý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydratu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: pokožka na svrchní straně z buněk s oranžově žlutým obsahem, krytých silnou kutikulou; pokožka na vnitřní straně z tenkostěnných buněk obsahujících krystaly a občas i hranoly šřavelanu vápenatého; roztroušené zdřevnatělé buňky, rovnostěnné buňky se ztlustlými tečkovanými stěnami tvořící bázi chlupů; dlouhé jednobuněčné chlupy až 2 mm dlouhé a 30 μm až 45 μm silné, ostře zašpičatělé se silně ztlustlými stěnami, kryté voskovitou kutikulou, na povrchu někdy spirálovitě rýhovanou; četné oranžově žluté chromatofory.
- C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.  
*Zkoušený roztok.* 5 g práškové drogy (355) se protřepává 30 min s 25 ml *lihu 96% R* a pak se zfiltruje.



*Porovnávací roztok.* 10 mg kyseliny askorbové R se rozpustí v 5,0 ml lihu R 60 % (V/V).

Na vrstvu se nanese 20 µl zkoušeného roztoku a 2 µl porovnávacího roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové R, acetonu R, methanolu R a toluenu R (5 + 5 + 20 + 70) 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 odpovídající polohou hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. Vrstva se postříká roztokem dichlorfenolindolifenolatu sodného R (0,2 g/l) v lihu 96% R a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je bílá skvrna na růžovém pozadí, odpovídající polohou a zbarvením hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v blízkosti čela intenzivní oranžově žlutá skvrna a v horní třetině žlutá skvrna (karotenoidy).

## Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi (2.8.2).** Nejvýše 1 %.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 10,0 %; 1,000 g práškové drogy (355) se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 5,0 %.

## Stanovení obsahu

*Zkoušený roztok.* 0,500 g čerstvě práškové drogy (710) se v baňce s kulatým dnem smíchá s 50,0 ml roztoku kyseliny šťavelové R (20 g/l) v methanolu R, vaří se 10 min pod zpětným chladičem, pak se ochladí ve vodě s ledem na 15 °C až 20 °C a zfiltruje se (filtrát se použije také pro roztok A). 2,0 ml filtrátu se převedou do 50ml kuželové baňky a za stálého mírného protřepávání se postupně přidají 2,0 ml dichlorfenolindolifenolatu sodného RS, přesně po 60 s 0,5 ml roztoku thiomocoviny R (100 g/l) v lihu R 50 % (V/V) a 0,7 ml dinitrofenylhydrazinu v kyselině sírové RS. Zahřívá se 75 min pod zpětným chladičem při 50 °C a pak se ihned vloží na 5 min do vody s ledem. Za intenzivního míchání ve vodě s ledem se po kapkách přidává 5,0 ml směsi složené z 12 ml vody R a 50 ml kyseliny sírové R, což trvá 90 s až 120 s. Po 30 min stání při pokojové teplotě se měří absorbance (2.2.25) při 520 nm za použití roztoku A jako kontrolního roztoku.

*Roztok A.* 2,0 ml filtrátu získaného při přípravě zkoušeného roztoku se upraví stejně, jak je popsáno v odstavci zkoušený roztok s tím rozdílem, že se dinitrofenylhydrazin v kyselině sírové RS přidá těsně před měřením absorbance.

*Porovnávací roztok.* 40,0 mg kyseliny askorbové R se rozpustí v čerstvě připraveném roztoku kyseliny šťavelové R (20 g/l) v methanolu R a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 100,0 ml (použije se také k přípravě roztoku B). 2,0 ml tohoto roztoku se upraví podle postupu pro filtrát v odstavci Zkoušený roztok. Měří se absorbance (2.2.25) při 520 nm za použití roztoku B jako kontrolního roztoku.

*Roztok B.* 2,0 ml roztoku získaného při přípravě porovnávacího roztoku se upraví stejně, jak je popsáno v odstavci Zkoušený roztok s tím, že se dinitrofenylhydrazin v kyselině sírové RS přidá těsně před měřením absorbance.

Obsah kyseliny askorbové se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{2,5 \cdot A_1 \cdot m_2}{A_2 \cdot m_1},$$

v němž značí:

$A_1$  - absorbanci zkoušeného roztoku,

$A_2$  - absorbanci porovnávacího roztoku,

$m_1$  - hmotnost zkoušené drogy v gramech,

$m_2$  - hmotnost kyseliny askorbové v gramech.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

65. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Daunorubicini hydrochloridum zní:

”

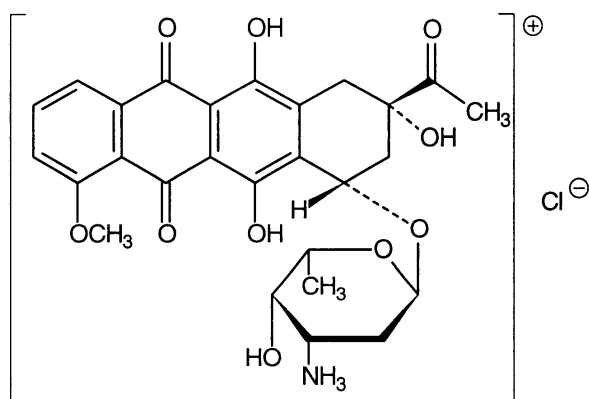
## † Daunorubicini hydrochloridum<sup>1)</sup>

Daunorubiciniumchlorid

*Synonymum.* Daunorubicinium chloratum



2001



$C_{27}H_{30}ClNO_{10}$

$M_r$  563,99

CAS 23541-50-6

Je to 1-O-[(8*S*,10*S*)-8-acetyl-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-5,12-dioxo-7,8,9,10-tetrahydrotetracen-10-yl]-3-amonio-2,3,6-trideoxy- $\alpha$ -L-lyxo-hexopyranosyl-chlorid<sup>2)</sup>. Tato látka je produkována určitými kmeny *Streptomyces coeruleorubidus* nebo *Streptomyces peucetius*, nebo se získává jinými způsoby. Počítáno na bezvodou látku prostou rozpouštědel, obsahuje 95,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{27}H_{30}ClNO_{10}$ .

### Výroba

Připravuje se výrobními postupy vylučujícími nebo minimalizujícími přítomnost histaminu.

### Vlastnosti

*Vzhled.* Oranžově červený krystalický hygroskopický prášek.

*Rozpusťnost.* Snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v acetonu.

### Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

*Porovnání s daunorubiciniumchloridem CRL.*

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 13, 1, 79 (2001). Závazné od 1. 4. 2001.

<sup>2)</sup> 1-O-[(8*S*,10*S*)-8-acetyl-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-5,12-dioxo-7,8,9,10-tetrahydrotetracen-10-yl]-3-amonio-2,3,6-trideoxy- $\alpha$ -L-lyxo-hexopyranosyl-chlorid

**B.** Asi 10 mg se rozpustí v 0,5 ml *kyseliny dusičné R*, přidá se 0,5 ml *vody R* a zahřívá se 2 min nad plamenem. Nechá se zchladnout a přidá se 0,5 ml *dusičnanu stříbrného RS1*; vzniká bílá sraženina.

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,5 až 6,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 50 mg ve vodě *prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Roztoky se připravují těsně před použitím.*

*Zkoušený roztok.* 50,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50,0 mg *daunorubiciniumchloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg *doxorubiciniumchloridu CRL* a 10 mg *epirubiciniumchloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 5,0 mg *daunorubicinonu CRL* a 5,0 mg *doxorubiciniumchloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 200,0 ml.

*Kolona:*

- *rozměry:* délka (*l*) 0,25 m, vnitřní průměr (*d*) 4,0 mm,

- *stacionární fáze:* silikagel oktadecylsilanizovaný s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii *R* (5 μm).

*Mobilní fáze.* Směs stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku obsahujícího *laurylsíran sodný R* (2,88 g/l) a *kyselinu fosforečnou* (2,25 g/l).

*Průtoková rychlost.* 1 ml/min.

*Detekce.* Spektrofotometr, 254 nm.

*Nástřík.* Nastříkuje se po 5 μl zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků (b), (c) a (d).

*Doba záznamu.* Dvojnásobek retenčního času *daunorubicinu*.

*Relativní retenční časy* vzhledem k *daunorubicinu* (retenční čas je asi 15 min):

- nečistota A: asi 0,4;
- nečistota D: asi 0,5;
- epirubicin: asi 0,6;
- nečistota B: asi 0,7.

*Test způsobilosti systému:*

- *rozlišení:* nejméně 2,0 mezi píkem nečistoty D a píkem epirubicinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

*Limity:*

- *nečistota A:* nejvýše plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %);
- *nečistota B:* nejvýše trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (1,5 %);
- *nečistota D:* nejvýše plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %);
- *jakákoliv další nečistota:* nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,5 %);
- *celkový obsah dalších nečistot:* nejvýše pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (2,5 %);
- *zanedbatelnost píků:* 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,05 %).

**1-Butanol** (2.4.24, *Systém B*). Nejvýše 1,0 %.

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 0,100 g zkoušené látky.

**Sterilita** (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem bez dalšího postupu, odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 4,3 m.j. endotoxinu v miligramu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu.

*Nástřík.* Nastříkuje se zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

Vypočítá se obsah  $C_{27}H_{30}ClNO_{10}$  v procentech.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

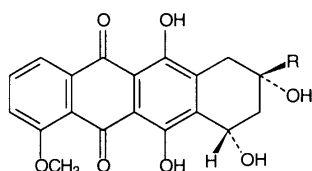
Separandum.

## Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, zda je látka:

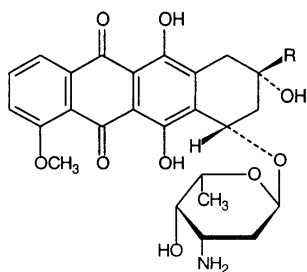
- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

## Nečistoty



A.  $R = CO-CH_3$ : (8*S*,10*S*)-8-acetyl-6,8,10,11-tetrahydroxy-1-methoxy-7,8,9,10-tetrahydrotetracen-5,12-dion (aglykon daunorubicinu, daunorubicinon),

E.  $R = CHO-CH_3$ : (8*S*,10*S*)-6,8,10,11-tetrahydroxy-8-[(1*RS*)-1-hydroxyethyl]-1-methoxy-7,8,9,10-tetrahydrotetracen-5,12-dion (13-dihydrodaunorubicinon),



B.  $R = CHO-CH_3$ : (8*S*,10*S*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- $\alpha$ -*L*-lyxo-hexopyranosyl)oxy]-6,8,11-trihydroxy-8-[(1*RS*)-1-hydroxyethyl]-1-methoxy-7,8,9,10-tetrahydrotetracen-5,12-dion (daunorubicinol),

C.  $R = CH_2-CO-CH_3$ : (8*S*,10*S*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- $\alpha$ -*L*-lyxo-hexopyranosyl)oxy]-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-8-(2-oxopropyl)-7,8,9,10-tetrahydrotetracen-5,12-dion (feudomycin B),

D.  $R = CO-CH_2-OH$ : doxorubicin,

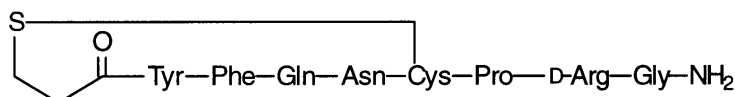
F.  $R = CO-CH_2-CH_3$ : (8*S*,10*S*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- $\alpha$ -*L*-lyxo-hexopyranosyl)oxy]-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-8-propanoyl-7,8,9,10-tetrahydrotetracen-5,12-dion (8-ethyl-daunorubicin).

66. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Desmopressinum zní:

”

## † Desmopressinum

Desmopressin



C<sub>46</sub>H<sub>64</sub>N<sub>14</sub>O<sub>12</sub>S<sub>2</sub>

M<sub>r</sub> 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 % peptidu C<sub>46</sub>H<sub>64</sub>N<sub>14</sub>O<sub>12</sub>S<sub>2</sub>. 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. *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 odměřený vhodný objem zkoušeného roztoku se nastříkne do analyzátoru aminokyselin.

Obsah každé aminokyseliny se vyjádří v molech. 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 tak, aby se dosáhl retenční čas pro pík desmopressinu asi 16 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky desmopressinu a oxytocinu je nejméně 1,5.

Nastříkne se 50 µl zkoušeného roztoku. Na chromatogramu 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 (2.5.34).** 3,0 % až 8,0 %.

**Zkoušený roztok.** 20,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (5 + 95) a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 10,0 ml.

**Voda, mikrostanovení (2.5.32).** Nejvýše 6,0 %.

**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 postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 500 m.j. endotoxinů 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.

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,
- průtoková rychlost je 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 píky desmopressinu a oxytocinu 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

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- množství peptidu v obalu,
- kde je to vhodné, zda je látka sterilní,
- kde je to vhodné, zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

“

67. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Dexpanthenolum doplňuje článek Dextranum 1 pro iniectione, který zní:

”

## Dextranum 1 pro iniectione

Dextran 1 na injekci

*Synonymum.* Dextranum 1 ad iniectione



2001

Je to nízkomolekulární frakce dextranu obsahující směs isomaltooligosacharidů. Získává se hydrolýzou a frakcionací dextranů produkovaných při fermentaci sacharosy za použití kmenu *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512 = CIP 78,59 nebo podkmennů (např. *L. mesenteroides* B-512F = NCTC 10817). Vyrábí se v podmínkách minimalizujících mikrobiální znečištění.

Průměrná relativní molekulová hmotnost je asi 1000.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

A. 3,000 g se rozpustí ve *vodě R* zahřátím na vodní lázni a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. Specifická optická otáčivost (2.2.7) tohoto roztoku je +148° až +164°, počítáno na vysušenou látku. Alikvotní část roztoku se nejdříve odpaří na

vodní lázni a pak se suší do konstantní hmotnosti ve vakuu při 70 °C. Množství dextranu se vypočítá po korekci na obsah chloridu sodného.

**B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru dextranu 1 CRL.**

Měří se látky ve formě tablet připravené takto: K 1 mg až 2 mg v achátové třecí misce se přidá 1 nebo několik kapek vody R, po dobu 1 min až 2 min se roztírá, přidá se asi 300 mg bromidu draselného R a míchá se do vzniku řídké kaše (neroztírá se). Pak se suší 15 min při 40 °C ve vakuu, zbytek se rozdrtí (není-li suchý, suší se dalších 15 min). Připraví se tableta s bromidem draselným R. Zaznamená se infračervené spektrum proti tabletě bromidu draselného R (slepý vzorek) vložené do referenčního paprsku.

**C. Zkouška Distribuce molekulových hmotností, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.**

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 7,5 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R zahřátím na vodní lázni a zředí se stejným rozpouštědlem na 50 ml.

**Absorbance (2.2.25).** Nejvýše 0,12; měří se absorbance roztoku S při 375 nm.

**Kyselce nebo zásadité reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,1 ml fenolftaleinu RS; roztok je bezbarvý. Přidá se 0,2 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok se zbarví růžově. Přidá se 0,4 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS; roztok je bezbarvý. Přidá se 0,1 ml červeně methylové RS; roztok se zbarví červeně nebo oranžově.

**Látky obsahující dusík.** Proveďte se stanovení dusíku mineralizací s kyselinou sírovou (2.5.9) za použití 0,200 g zkoušené látky a zahřívání po dobu 2 h. Destilát se jímá do směsi 0,5 ml zeleně bromkresolové RS, 0,5 ml červeně methylové RS a 20 ml vody R. Titruje se kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l VS. Ke změně barvy indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,15 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS (110 µg N<sub>2</sub>/g).

**Chlorid sodný.** Nejvýše 1,5 %; přesně se zváží 3 g až 5 g a rozpustí se ve 100 ml vody R. Přidá se 0,3 ml chromanu draselného RS a titruje se dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS do změny nažloutle bílého zbarvení na červenohnědé.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 5,844 mg NaCl.

**Distribuce molekulových hmotností (2.2.39).** Průměrná molekulová hmotnost ( $M_r$ ) je 850 až 1150. Frakce s méně než 3 jednotkami glukosy je menší než 15 %, frakce s více než 9 jednotkami glukosy je menší než 20 %.

Stanoví se vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Zkoušený roztok.** 6,0 mg až 6,5 mg se rozpustí v 1,0 ml mobilní fáze.

**Porovnávací roztok (a).** 6,0 mg až 6,5 mg dextranu 1 CRL se rozpustí v 1,0 ml mobilní fáze.

**Porovnávací roztok (b).** Množství jedné ampule isomaltooligosacharidu CRL se rozpustí v 1 ml mobilní fáze a promíchá se. Tento roztok obsahuje ve 100 µl asi 45 µg isomaltotriosu (3 glukosové jednotky), asi 45 µg isomaltonaosy (9 glukosových jednotek) a asi 60 µg chloridu sodného.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- dvou kolon délky 30 cm a vnitřního průměru 10 mm, v sérii, naplněných materiálem z dextranu kovalentně vázaného k vysoce síťovaným pórovitým agarosovým kuličkám, vhodným k dělení oligosacharidů o molekulové hmotnosti 180 až 3000, kolony se udržují při 20 °C až 25 °C,
- mobilní fáze, kterou je roztok chloridu sodného R (2,92 g/l); konstantní průtoková rychlost se udržuje při (0,07 ml/min až 0,08 ml/min) ± 1 %,
- diferenčního refraktometru jako detektoru.

Nastříkne se 100 µl porovnávacího roztoku (b) a zaznamená se výsledný chromatogram pro určení poloh isomaltotriosu, isomaltonaosy a chloridu sodného. Nastříkne se 100 µl zkoušeného roztoku a 100 µl porovnávacího roztoku (a) a zaznamenají se chromatogramy. Určí se plochy píků. Nepřihlíží se k píku chloridu sodného.

Vypočítá se průměrná relativní molekulová hmotnost  $M_r$  a množství frakce s méně než 3 glukosovými jednotkami a s více než 9 glukosovými jednotkami dextranu 1 CRL a zkoušené látky. Zkoušku lze hodnotit, jestliže získané hodnoty dextranu 1 CRL odpovídají hodnotám uvedeným v označení na obalu.

$$M_r = \sum w_i \cdot m_i ,$$



v němž značí:

$M_r$  - průměrnou molekulovou hmotnost dextranu,

$m_i$  - molekulovou hmotnost oligosacharidu  $i$ ,

$w_i$  - hmotnostní podíl oligosacharidu  $i$ .

Pro výpočet se použijí následující hodnoty molekulových hmotností:

glukosa:	180,	isomaltoundekaosa:	1800,
isomaltosa:	342,	isomaltododekaosa:	1962,
isomaltotriosa:	504,	isomaltotridekaosa:	2124,
isomaltotetraosa:	666,	isomaltotetradekaosa:	2286,
isomaltopentaosa:	828,	isomaltopentadekaosa:	2448,
isomaltohexaosa:	990,	isomaltohexadekaosa:	2610,
isomaltoheptaosa:	1152,	isomaltoheptadekaosa:	2772,
isomaltoktaosa:	1314,	isomaltooktadekaosa:	2934,
isomaltononaosa:	1476,	isomaltononadekaosa:	3096.
isomaltodekaosa:	1638,		

**Těžké kovy (2.4.8).** 20 ml roztoku S se zředí vodou R na 30 ml. 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  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 5,0 %; 5,000 g se suší 5 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14).** Nejvýše 25 m.j. endotoxinů v gramu.

**Mikrobiální znečištění.** Nejvýše  $10^2$  živých aerobních mikroorganismů v gramu; stanoví se metodou počítání na pevných půdách (2.6.12). Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* (2.6.13).

“

68. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Dextranum 70 pro injekce doplňuje článek Dextrinum, který zní:

”

## Dextrinum

Dextrin



Je to kukuřičný nebo bramborový škrob částečně hydrolyzovaný a modifikovaný zahříváním v roztoku s nebo bez přítomností kyselin, alkálií nebo látek upravujících hodnotu pH.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý sypký prášek. Je velmi dobře rozpustný ve vroucí vodě za vzniku viskózní tekutiny, pomalu se rozpouští ve studené vodě. Je prakticky nerozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se suspenduje v 50 ml *vody R*, vaří se 1 min a ochladí se. K 1 ml tohoto roztoku (použije se také ke zkoušce B) se přidá 0,05 ml *jodu RS1*; vznikne temně modré zbarvení, které zahřátím vymizí.
- B. 5 ml viskózní tekutiny získané ve zkoušce totožnosti A se odstředí, k horní vrstvě se přidají 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a po kapkách za třepání se přidá 0,5 ml *síranu měďnatého RS* a vaří se; vznikne červená sraženina.
- C. Je velmi dobře rozpustný ve vroucí *vodě R* za tvorby viskózní tekutiny.

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 2,0 až 8,0; měří se suspenze připravená dispergováním 5,0 g ve 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*.

**Chloridy**. 2,5 g se rozpustí v 50 ml vroucí *vody R*, zředí se *vodou R* na 100 ml a zfiltruje se. 1 ml filtrátu se zředí na 15 ml, přidá se 1 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a směs se najednou vlije do 1 ml *dusičnanu stříbrného RS* a nechá se 5 min stát chráněna před světlem. Při pozorování proti černému pozadí vzniklá opalescence není intenzivnější než opalescence směsi 10 ml základního *roztoku chloridů* (5 µg Cl/ml) a 5 ml *vody R* připravené stejným způsobem (0,2 %).

**Redukující cukry**. K množství dextrinu odpovídajícímu 2,0 g (vysušené látky) se přidá 100 ml *vody R*, třepe se 30 min, zředí se *vodou R* na 200,0 ml a zfiltruje se. K 10,0 ml *vinanu měďnatého RS* se přidá 20,0 ml filtrátu, zamíchá se a zahřeje se na horké plotně nastavené tak, aby se roztok do 3 min uvedl do varu. Vaří se 2 min a ihned se ochladí. Přidá se 5 ml roztoku *jodidu draselného R* (300 g/l) a 10 ml *kyseliny sírové 1 mol/l VS*, zamíchá se a ihned se titruje *thiosíranem sodným 1 mol/l VS* za použití *škrobu RS* jako indikátoru přidaného těsně před koncem titrace. Prostup se znovu opakuje počínaje větou: „K 10,0 ml ...“ s tím rozdílem, že místo filtrátu se použije 20,0 ml přesně připraveného roztoku *glukosy R* (1 g/l). Proveďte se slepá zkouška. ( $V_B - V_U$ ) je menší než ( $V_B - V_S$ ), kde  $V_B$ ,  $V_U$  a  $V_S$  jsou spotřeby *thiosíranu sodného 1 mol/l VS* v mililitrech při slepé zkoušce, při titraci dextrinu a glukosy (10 %, počítáno jako glukosa  $C_6H_{12}O_6$ ).

**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 13,0 %; 1,000 g se suší 90 min v sušárně při 130 °C až 135 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

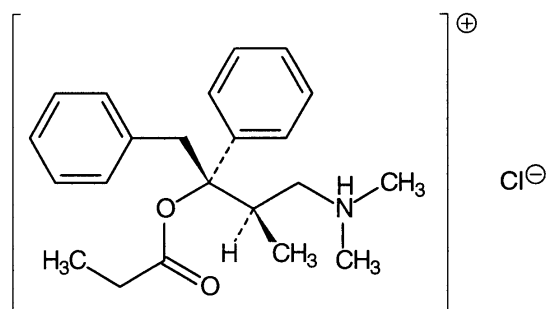
69. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Dextropropoxypheni hydrochloridum zní:

”

## §§ † Dextropropoxypheni hydrochloridum

Dextropropoxyfeniumchlorid

*Synonymum.* Dextropropoxyphenium chloratum



$C_{22}H_{30}ClNO_2$

$M_r$  375,94

CAS 1639-60-7

Je to (2*R*,3*S*)-(3,4-difenyl-2-methyl-3-propionyloxybutyl)dimethylamoniumchlorid<sup>1)</sup>.  
Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{22}H_{30}ClNO_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.  
Taje při asi 165 °C.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, C a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B.** 50,0 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové* 0,01 mol/l RS a zředí se jí na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 220 nm až 360 nm. Roztok vykazuje tři absorpční maxima: při 252 nm, 257 nm a 263 nm, a dvě prodlevy: při 240 nm a 246 nm. Poměr absorbance v maximu při 257 nm k absorbanci v maximu při 252 nm je 1,22 až 1,28. Poměr absorbance v maximu při 257 nm k absorbanci v maximu při 263 nm je 1,29 až 1,35. Zkoušku lze hodnotit, jestliže ve zkoušce rozlišení (2.2.25) poměr absorbancí je nejméně 1,5.
- C.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá *referenčnímu spektru Ph. Eur. pro dextropropoxyfeniumchlorid*.
- D.** Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

<sup>1)</sup> (2*R*,3*S*)-(3,4-difenyl-2-methyl-3-propionyloxybutyl)dimethylamonium-chlorid

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1,5 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 30 ml.

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

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,5 až 6,5; měří se roztok S.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +52° až +57°; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,100 g ve *vodě R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 50 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 0,50 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 50 mg se rozpustí v 2,5 ml *hydroxidu draselného v lihu 2 mol/l RS*, přidá se 2,5 ml *vody R* a vaří se 30 min pod zpětným chladičem. Potom se přidá 2,5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se mobilní fází na 50 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony 0,125 m dlouhé a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (5 μm),
- předkolony naplněné vhodným silikagelem, ustálené mobilní fází a umístěné mezi čerpadlo a dávkovací zařízení,
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,5 (0,2 mol/l)*, *tetrahydrofuranu R*, *methanolu R* a *vody R* (50 + 84 + 350 + 516) obsahující *cetyltrimethylamoniumbromid R* (0,9 g/l), průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm,
- injektorové smyčky.

Chromatografický systém se ustaluje promýváním mobilní fází po dobu 16 h (po 6 h může být mobilní fáze recirkulovaná).

Nastříkne se po 20 μl každého roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) poměr signálu píku k šumu je nejméně 5, na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dva píky a rozlišení mezi těmito píky je nejméně 2,0. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %).

**Těžké kovy** (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (1 μg Pb/ml)*.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

0,270 g se rozpustí v 60 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití 0,1 ml roztoku *zeleně malachitové R* (5 g/l) v *acetanhydridu R* jako indikátoru.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 37,59 mg  $C_{22}H_{30}ClNO_2$ .

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

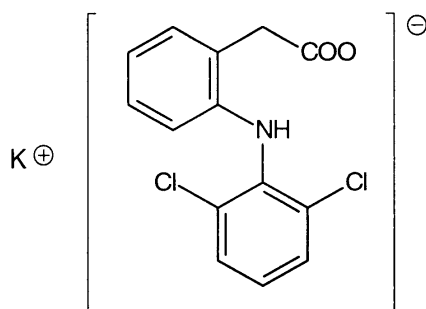
Omamná látka. Separandum.

70. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Dibutylis phtalas doplňuje článek Diclofenacum kalicum, který zní:

”

## † Diclofenacum kalicum

Draselná sůl diklofenaku



$C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$

$M_r$  334,24

CAS 15307-81-0

Je to kalium-{2-[(2,6-dichlorfenyl)amino]fenyl}acetat<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický slabě hygroskopický prášek. Je mírně rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v methanolu, dobře rozpustná v lihu 96% a 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.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *draselné soli diklofenaku CRL*.

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

*Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25 mg *draselné soli diklofenaku CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg *indometacinu R* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 2 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *ethylacetatu R* (10 + 10 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu 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 (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

<sup>1)</sup> kalium-{2-[(2,6-dichlorfenyl)amino]fenyl}acetát

- C. Asi 10 mg se rozpustí v 10 ml *líhu 96% R*. K 1 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml směsi stejných objemových dílů roztoku *hexakvanoželezitanu draselného R* (6 g/l) a roztoku *chloridu železitého R* (9 g/l), připravené v čas potřeby. Roztok se nechá 5 min stát chráněn před světlem. Přidají se 3 ml roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (10 g/l) a roztok se nechá stát 15 min chráněn před světlem; vzniká modré zbarvení a tvoří se sraženina.
- D. 0,5 g se suspenduje v 10 ml *vody R*, zamíchá se a přidává se *voda R* až do úplného rozpuštění. Přidají se 2 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, míchá se 1 h a zfiltruje se pomocí vakua. Roztok se zneutralizuje *hydroxidem sodným RS*; vyhovuje zkoušce (b) na draslík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 1,25 g se rozpustí v *methanolu R* se zředí se jím na 25,0 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a jeho absorbance (2.2.25) měřená při 440 nm není větší než 0,05.

**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).* 2,0 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).* 1,0 mg *diklofenaku nečistoty A CRL* se rozpustí v *methanolu R*, přidá se 1,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se *methanolem R* 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 s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku obsahujícího *kyselinu fosforečnou R* (0,5 g/l) a *dihydrogenfosforečnan sodný R* (0,8 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,5 a *methanolu R* (34 + 66); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy diklofenaku asi 25 min a nečistoty A asi 12 min. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píků na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky diklofenaku a nečistoty A je nejméně 6,5.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřehlídí se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,25násobek 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). 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 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

### Stanovení obsahu

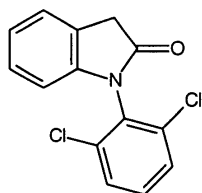
0,250 g se rozpustí v 30 ml *kyseliny octové ledové R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 33,42 mg  $C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$ .

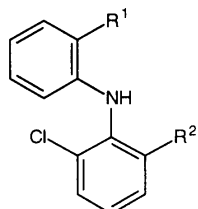
### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem.  
Separandum.

## Nečistoty



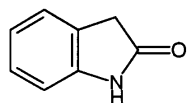
A. 1-(2,6-dichlorofenyl)-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on,



B.  $R^1 = \text{CHO}$ ,  $R^2 = \text{Cl}$ : 2-[(2,6-dichlorofenyl)amino]benzaldehyd,

C.  $R^1 = \text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R^2 = \text{Cl}$ : {2-[(2,6-dichlorofenyl)amino]fenyl}methanol,

D.  $R^1 = \text{CH}_2\text{-COOH}$ ,  $R^2 = \text{Br}$ : kyselina 2-{2-[(2-brom-6-chlorofenyl)amino]fenyl}octová,



E. 1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on.

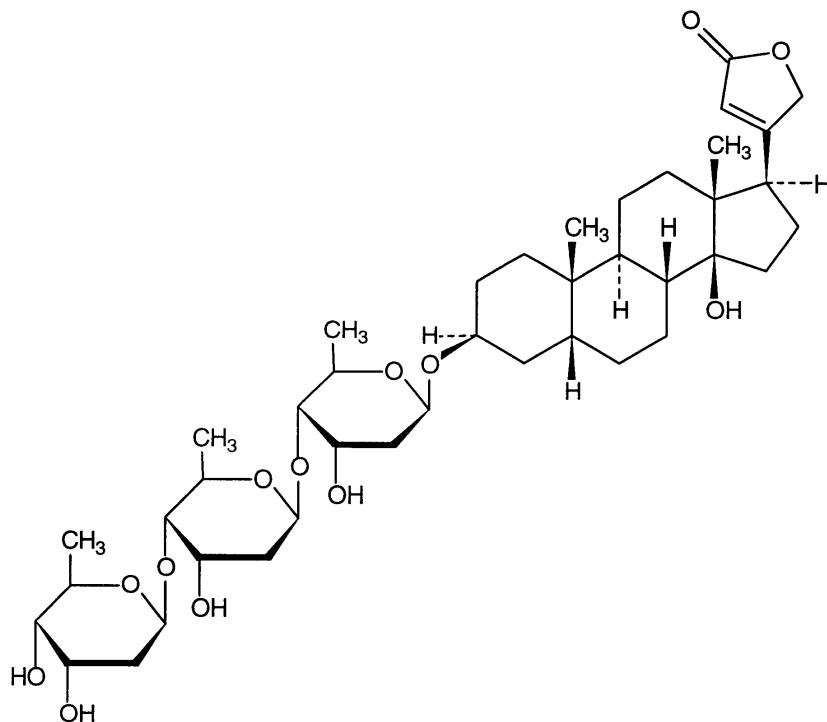
71. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Digitoxinum zní:

”

## †† Digitoxinum

Digitoxin

2001



$C_{41}H_{64}O_{13}$

$M_r$  764,95

CAS 71-63-6

Je to 3 $\beta$ -[(O-2,6-dideoxy- $\beta$ -D-*ribo*-hexopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O-2,6-dideoxy- $\beta$ -D-*ribo*-hexopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4))-2,6-dideoxy- $\beta$ -D-*ribo*-hexopyranosyl]oxy]-14-hydroxy-5 $\beta$ ,14 $\beta$ -kard-20(22)-enolid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 95,0 % až 103,0 % sloučeniny  $C_{41}H_{64}O_{13}$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný ve směsi stejných objemových dílů dichlormethanu a methanolu, těžce rozpustný v lihu 96% a v methanolu.

<sup>1)</sup> 3 $\beta$ -[(O-2,6-dideoxy- $\beta$ -D-*ribo*-hexopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O-2,6-dideoxy- $\beta$ -D-*ribo*-hexopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4))-2,6-dideoxy- $\beta$ -D-*ribo*-hexopyranosyl]oxy]-14-hydroxy-5 $\beta$ ,14 $\beta$ -kard-20(22)-enolid



## Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *digitoxinu CRL*.

**B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou, barvou a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**C.** Asi 0,5 mg se suspenduje v 0,2 ml *lihu R 60% (V/V)*. Přidá se 0,1 ml *kyseliny dinitrobenzoové RS* a 0,1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*; vzniká fialové zbarvení.

**D.** Asi 0,5 mg se rozpustí opatrným zahřátím v 1 ml *kyseliny octové ledové R*, nechá se ochladit a přidá se 0,05 ml *chloridu železitého RS1*. Na tento roztok se opatrně navrství 1 ml *kyseliny sírové R* tak, aby nedošlo k promíchání obou vrstev. Na styku obou tekutin vznikne hnědý prstenec, který stáním přechází na zelené a pak na modré zbarvení, které prolíná do horní vrstvy.

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 50 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *dichlormethanu R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda I*).

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +16,0° až +18,5°; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,25 g v *chloroformu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

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

**Zkoušený roztok.** 20 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *dichlormethanu R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 2 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 20 mg *digitoxinu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *dichlormethanu R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 2 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 0,5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *dichlormethanu R* a *methanolu R* na 50 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 10 mg *gitoxinu CRL* se mícháním rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *dichlormethanu R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 50 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 1 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí směsí stejných objemových dílů *dichlormethanu R* a *methanolu R* na 2 ml.

**Porovnávací roztok (e).** 1 ml porovnávacího roztoku (a) a 1 ml porovnávacího roztoku (c) se smíchají.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a ihned se vyvíjí směsí objemových dílů *methanolu R*, *cyklohexanu R* a *dichlormethanu R* (15 + 40 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 5 min v proudu studeného vzduchu a vyvíjení se opakuje. Vrstva se 5 min suší v proudu studeného vzduchu, postříká se směsí objemových dílů *kyseliny sírové R* a *lihu 96% R* (1 + 9), 15 min se zahřívá při 130 °C a pozoruje se v denním světle.

**Gitoxin.** Skvrna odpovídající gitoxinu na chromatogramu zkoušeného roztoku není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (2,0 %).

**Jiné glykosidy.** Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající gitoxinu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) jsou zřetelně oddělené skvrny odpovídající digitoxinu, gitoxinu a jiným glykosidům a skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je zřetelně viditelná.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 1,5 %; 0,500 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se se zbytkem získaným ve zkoušce Ztráta sušením.

**Stanovení obsahu**

40,0 mg se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml. Současně za stejných podmínek se připraví porovnávací roztok za použití 40,0 mg *digitoxinu CRL*. K 5,0 ml obou roztoků se přidají 3,0 ml *trinitrofenolatu sodného RS* a nechá se 30 min stát za chránění před světlem. Měří se absorbance (2.2.25) obou roztoků v maximu při 495 nm proti současně připravenému kontrolnímu roztoku, kterým je směs 5,0 ml *lihu 96% R* a 3,0 ml *trinitrofenolatu sodného RS*.

Obsah  $C_{41}H_{64}O_{13}$  se vypočítá ze zjištěných absorbcí a koncentrací roztoků.

**Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Venenum.

66

72. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Dikalii clorazepas zní:

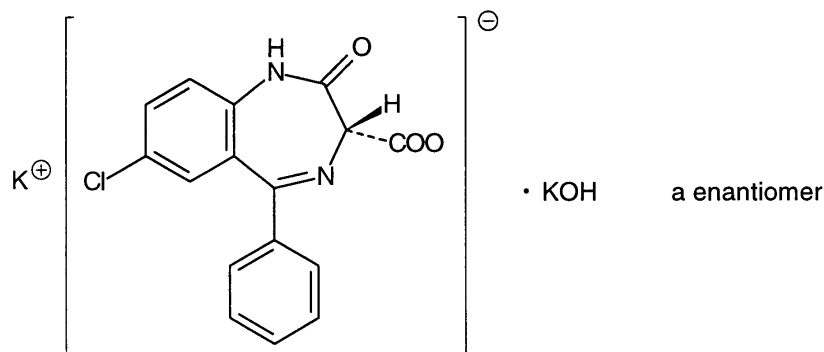
”

**§ † Dikalii clorazepas**

Didraselná sůl klorazepatu



2001


 $C_{16}H_{11}ClK_2N_2O_4$ 
 $M_r$  408,92

CAS 57109-90-7

Je to sloučenina kalium-(3*RS*)-7-chlor-5-fenyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-karboxylatu<sup>1)</sup> s hydroxidem draselným (1 : 1). Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{16}H_{11}ClK_2N_2O_4$ .

<sup>1)</sup> kalium-(3*RS*)-7-chlor-5-fenyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-1,4-benzodiazepin-3-karboxylátu

## Vlastnosti

Bílý nebo slabě žlutý krystalický prášek. Je snadno nebo velmi snadno rozpustná ve vodě, velmi těžce rozpustná v lihu 96%, prakticky nerozpustná v dichlormethanu. Roztoky ve vodě a v lihu 96% jsou nestabilní a připravují se v čas potřeby.

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady (1.2)*.

- A. 10,0 mg se rozpustí v roztoku *uhličitanu draselného R* (0,3 g/l) a zředí se jím na 100,0 ml (roztok A). Měří se absorbance (2.2.25) roztoku A při 280 nm až 350 nm; roztok A vykazuje široké absorpční maximum při asi 315 nm. Hodnota specifické absorbance v maximu je 49 až 56. 10,0 ml roztoku A se zředí roztokem *uhličitanu draselného R* (0,3 g/l) na 100,0 ml (roztok B). Měří se absorbance (2.2.25) roztoku B při 220 nm až 280 nm; roztok B vykazuje absorpční maximum při 230 nm. Hodnota specifické absorbance v maximu je 800 až 870.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá *referenčnímu spektru Ph. Eur. didraselné soli klorazepatu*. Měří se zkoušená látka ve formě tablety.
- C. Asi 20 mg se rozpustí ve 2 ml *kyseliny sírové R* a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm; roztok vykazuje žlutou fluorescenci.
- D. 0,5 g se rozpustí v 5 ml *vody R* a přidá se 0,1 ml *modři thymolové RS*; roztok se zbarví fialově modře.
- E. 1,0 g se převede do kelímku, přidají se 2 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a zahřívá se nejprve na vodní lázni, pak se žihá, dokud všechny černé částičky nezmizí. Po ochlazení se zbytek rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20 ml; roztok vyhovuje zkoušce (b) na draslík (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 1,0 g se rychle třepáním rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml. Tento roztok hodnocený bezprostředně po přípravě je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *ZŽ<sub>5</sub>* (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*. Zkouška se provádí za ochrany před světlem a roztoky se připravují těsně před použitím.

**Zkoušený roztok.** 0,10 g se rozpustí v roztoku *uhličitanu draselného R* (40 g/l) a zředí se jím na 5 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10 mg *aminochlorbenzofenonu R* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 100 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí *acetonem R* na 25 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10 mg *nordazepamu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 50 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí *acetonem R* na 25 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí roztokem *uhličitanu draselného R* (40 g/l) na 100 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 10 mg *nordazepamu CRL* a 10 mg *nitrazepamu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 50 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a *dichlormethanu R* (15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku skvrna odpovídající *nordazepamu* není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající *nordazepamu*, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %).

Vrstva se postříká čerstvě připraveným roztokem *dušitanu sodného R* (10 g/l) v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS*, usuší se v proudu teplého vzduchu a postříká se roztokem *naftylethylendiamoniumdichloridu R* (4 g/l) v *lihu 96% R*. Skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídající *aminochlorbenzofenonu* není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,2 %; 1,000 g se 4 h suší ve vakuu při 60 °C.

### Stanovení obsahu

0,130 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny octové bezvodé R*, přidá se 30 ml *dichlormethanu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) dvou inflexních bodů. Poměr objemu kyseliny chloristé spotřebované do druhého inflexního bodu k objemu kyseliny chloristé spotřebované do prvního inflexního bodu je 1,48 až 1,52. K výpočtu obsahu se použije spotřeba kyseliny chloristé zjištěná ve druhém inflexním bodu.

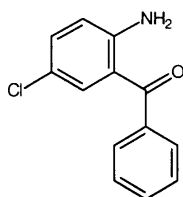
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 13,63 mg  $C_{16}H_{11}ClK_2N_2O_4$ .

### Uchovávání

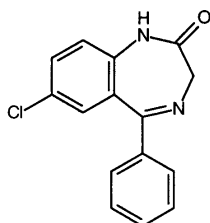
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Psychotropní látka. Separandum.

### Nečistoty



A. (2-amino-5-chlorofenyl)fenylketon,



B. 7-chlor-5-fenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on (nordazepam).

73. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Nitrogenii oxidum (N<sub>2</sub>O) zní:

”

## Dinitrogenii oxidum

Oxid dusný

*Synonymum.* Nitrogenium oxydulatum



N<sub>2</sub>O

*M<sub>r</sub>* 44,01

CAS 10024-97-2

Obsahuje nejméně 98,0 % (V/V) sloučeniny N<sub>2</sub>O v plynné fázi, odebrané při 15 °C.

### Vlastnosti

Bezbarvý plyn. Při 20 °C a tlaku 101 kPa se 1 objemový díl plynu rozpustí v asi 1,5 objemového dílu vody.

### Výroba

Oxid dusný se vyrábí tepelným rozkladem dusičnanu amonného.

*Zkouší se plynná fáze.*

*Pokud se zkouška provádí s tlakovou lahví, ponechá se lahev se zkoušeným plynem nejméně 6 h při pokojové teplotě ve vertikální poloze s vypouštěcím ventilem nahore.*

**Oxid uhličitý.** Nejvýše 300 ml/m<sup>3</sup>; provede se plynová chromatografie (2.2.28).

*Zkoušený plyn.* Zkoušená látka.

*Porovnávací plyn.* Směs obsahující 300 ml/m<sup>3</sup> oxidu uhličitého R1 v oxidu dusném R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 3,5 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné ethylvinylbenzodivinybenzen kopolymerem R,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 15 ml/min,
- tepelně vodivostního detektoru,
- injektorové smyčky.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C a detektoru na 90 °C.

Nastříkne se zkoušený plyn a porovnávací plyn. Nastříknuté objemy a pracovní podmínky se nastaví tak, aby výška píky oxidu uhličitého na chromatogramu porovnávacího plynu byla nejméně 35 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaných chromatogramech jsou zřetelně odděleny píky oxidu uhličitého a oxidu dusného.

Obsah oxidu uhličitého ve zkoušeném plynu se vypočítá pomocí plochy píky oxidu uhličitého na chromatogramu porovnávacího plynu.

**Oxid uhelnatý.** Nejvýše 5 ml/m<sup>3</sup>; provede se plynová chromatografie (2.2.28). *Pokud se zkouška provádí s tlakovou lahví, použije se první část plynu, která se odebere.*

*Zkoušený plyn.* Zkoušená látka.

*Porovnávací plyn.* Směs obsahující 5 ml/m<sup>3</sup> oxidu uhelnatého R v oxidu dusném R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 2 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné vhodným molekulovým sítím pro chromatografii (0,5 nm),
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 60 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru s methanizérem.

Teplota kolony se udržuje na 50 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 130 °C.

Nastříkne se zkoušený plyn a porovnávací plyn. Nastříknuté objemy a pracovní podmínky se nastaví tak, aby výška hlavního píku oxidu uhelnatého na chromatogramu porovnávacího plynu byla nejméně 35 % celé stupnice zapisovače.

Obsah oxidu uhelnatého ve zkoušeném plynu se vypočítá pomocí plochy píku oxidu uhelnatého na chromatogramu porovnávacího plynu.

**Oxid dusnatý a oxid dusičitý.** Celkem nejvýše 2 ml/m<sup>3</sup> v plynné a kapalně fázi; stanoví se za použití chemiluminiscenčního analyzátoru (2.5.26).

*Zkoušený plyn.* Zkoušená látka.

*Porovnávací směs (a).* Oxid dusný R.

*Porovnávací směs (b).* Směs obsahující 2 ml/m<sup>3</sup> oxidu dusnatého R v dusíku R1.

Za použití porovnávacích směsí (a) a (b) se přístroj kalibruje a nastaví se citlivost. Změří se obsah oxidu dusnatého a oxidu dusičitého; odděleně se zkouší vzorky zkoušené látky odebrané z plynné fáze a z kapalně fáze.

**Voda.** Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; stanoví se za použití elektrolytického hygrometru (2.5.28).

**Stanovení obsahu.** Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

*Zkoušený plyn.* Zkoušená látka.

*Porovnávací plyn.* Oxid dusný R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (250 μm až 355 μm),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 50 ml/min,
- tepelně vodivostního detektoru.

Teplota kolony a nástřikového prostoru se udržují na 60 °C a detektoru na 130 °C.

Nastříkne se zkoušený plyn a porovnávací plyn. Nastříknuté objemy a pracovní podmínky se nastaví tak, aby výška hlavního píku oxidu dusného na chromatogramu porovnávacího plynu byla nejméně 35 % celé stupnice zapisovače. Plocha píku oxidu dusného na chromatogramu zkoušeného plynu je nejméně 98,0 % píku oxidu dusného na chromatogramu porovnávacího plynu.

## Zkoušky totožnosti

*Základní zkouška:* A.

*Alternativní sestava zkoušek:* B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) odpovídá referenčnímu spektru *Ph. Eur. oxidu dusného*.

**B.** Doutnající dřevěná tříška se umístí do atmosféry zkoušeného plynu; tříška vzplane.

**C.** Zkoušený plyn se zavádí do *pyrogallolu zásaditého RS*; nevznikne hnědé zbarvení.

## Zkoušky na čistotu

Zkouší se plynná fáze.

*Pokud se zkouška provádí s tlakovou lahví, ponechá se lahev se zkoušeným plynem nejméně 6 h při pokojové teplotě ve vertikální poloze s vypouštěcím ventilem nahore.*

**Oxid uhličitý.** Nejvýše 300 ml/m<sup>3</sup>; stanoví se za použití trubičky k detekci oxidu uhličitého (2.1.6).

**Oxid dusnatý a oxid dusičitý.** Nejvýše 2 ml/m<sup>3</sup>; stanoví se za použití trubičky k detekci oxidu dusnatého a oxidu dusičitého (2.1.6).

**Oxid uhelnatý.** Nejvýše 5 ml/m<sup>3</sup>; stanoví se za použití trubičky k detekci oxidu uhelnatého (2.1.6).

*Pokud se zkouška provádí s tlakovou lahví, použije se první část zkoušeného plynu.*

**Vodní pára.** Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; stanoví se za použití trubičky k detekci vodní páry (2.1.6).

### Uchovávání

Zkapalněný pod tlakem ve vhodných obalech vyhovujících ČSN 07 8510 nebo ČSN EN 1089-3. Kohouty a ventily se nepromazávají a neolejují.

### Nečistoty

- A. oxid uhličitý,
- B. oxid uhelnatý,
- C. oxid dusnatý,
- D. oxid dusičitý,
- E. voda.

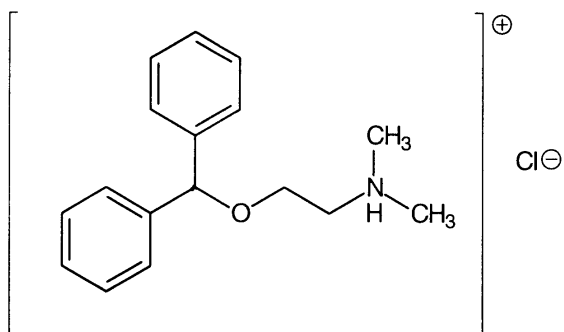
“

74. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Diphenhydramini hydrochloridum zní:

”

## † Diphenhydramini hydrochloridum

Difenhydraminiumchlorid

 $C_{17}H_{22}ClNO$  $M_r$  291,82

CAS 147-24-0

Je to [2-(difenylmethoxy)ethyl]dimethylamoniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{17}H_{22}ClNO$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

<sup>1)</sup> [2-(difenylmethoxy)ethyl]dimethylamonium-chlorid

## 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). 168 °C až 172 °C.

B. 50 mg se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 230 nm až 350 nm. Roztok vykazuje tři maxima: při 253 nm, 258 nm a 264 nm. Specifické absorbance v uvedených maximech jsou asi 12, 15 a 12.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *difenhydraminiumchloridu CRL*. Měří se tablety látek s *chloridem draselným R*.

D. K 0,05 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidají 2 ml *kyseliny sírové R*. Roztok se zbarví intenzivně žlutě a po přidání 0,5 ml *kyseliny dusičné R* červeně. Přidá se 15 ml *vody R*, ochladí se, přidá se 5 ml *chloroformu R* a protřepe se; chloroformová vrstva se zbarví intenzivně fialově.

E. Vyhovuje zkouškám 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 20 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S a roztok S pětkrát zředěný jsou čiré (2.2.1). Roztok S není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>6</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,0 až 6,0; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu H pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** 0,2 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. *Připravuje se těsně před použitím.*

**Porovnávací roztok.** 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *diethylaminu R*, *methanolu R* a *chloroformu R* (1 + 20 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 5 min na vzduchu, postříká se *kyselinou sírovou R* a zahřívá se 10 min při 120 °C, nebo tak dlouho, dokud se neobjeví skvrny. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (1,0 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 50 ml lihu 96% R, 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 29,18 mg C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>ClNO.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.



75. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Emetini dihydrochloridum heptahydricum zní:

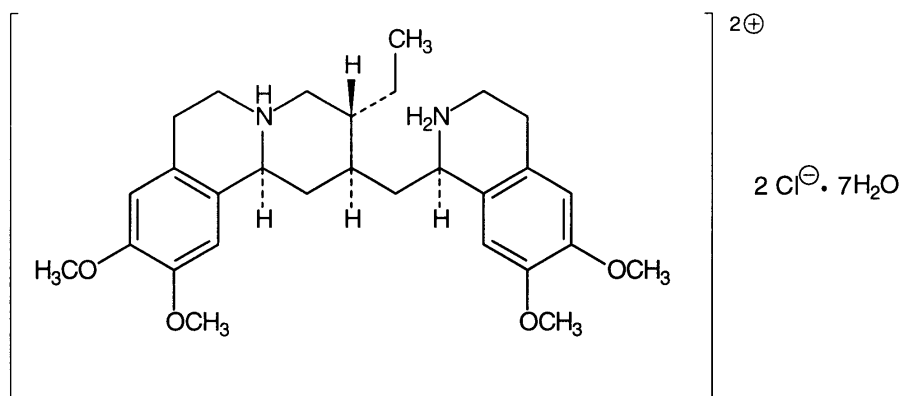
”

## † Emetini dihydrochloridum heptahydricum

Heptahydrát emetiniumdichloridu

*Synonymum.* Emetini hydrochloridum heptahydricum

2001



$C_{29}H_{42}Cl_2N_2O_4 \cdot 7H_2O$

$M_r$  679,67  
 $M_r$  bezvodého 553,57

CAS 79300-08-6

Je to heptahydrát (2*S*,3*R*,11*bS*)-2-[[*(R)*-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-2-ium-1-yl]methyl]-3-ethyl-9,10-dimethoxy-1,3,4,6,7,11*b*-hexahydro-2*H*-benzo[*a*]chinolizin-5-ium-dichloridu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{29}H_{42}Cl_2N_2O_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a E.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru heptahydrátu *emetiniumdichloridu CRL*.
- Chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz *Zkoušky na čistotu*, se pozorují v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, fluorescencí a velikostí skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- Asi 10 mg se rozpustí ve 2 ml *peroxidu vodíku zředěného RS*, přidá se 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zahřeje se; vzniká oranžové zbarvení.
- Asi 5 mg se nasype na povrch 1 ml *molybdenan-kyseliny sírové RS2*; vzniká světle zelené zbarvení.

E. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1,25 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok Ž<sub>5</sub> nebo HŽ<sub>5</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH.** 4,0 až 6,0; měří se roztok připravený zředěním 4 ml roztoku S vodou prostou oxidu uhličitého R na 10 ml.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +16° až +19°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním množství odpovídajícího 1,250 g vysušené látky ve vodě R a zředí se jí na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

**Zkoušený roztok.** 50 mg se rozpustí v methanolu R, obsahujícím 1 % (V/V) amoniaku zředěného RS2 a zředí se jím na 100 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 50 mg heptahydrátu emetiniumdichloridu CRL se rozpustí v methanolu R obsahujícím 1 % (V/V) amoniaku zředěného RS2 a zředí se jím na 100 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10 mg isoemetiniumdibromidu CRL se rozpustí v methanolu R, obsahujícím 1 % (V/V) amoniaku zředěného RS2 a zředí se jím na 100 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R, obsahujícím 1 % (V/V) amoniaku zředěného RS2 na 50 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 10 mg cefaěliniumdichloridu CRL se rozpustí v methanolu R obsahujícím 1 % (V/V) amoniaku zředěného RS2 a zředí se jím na 100 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R, obsahujícím 1 % (V/V) amoniaku zředěného RS2 na 50 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 1 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí methanolem R, obsahujícím 1 % (V/V) amoniaku zředěného RS2 na 100 ml.

**Porovnávací roztok (e).** 1 ml porovnávacího roztoku (a), 1 ml porovnávacího roztoku (b) a 1 ml porovnávacího roztoku (c) se smíchají.

*Roztoky se připravují bezprostředně před použitím.*

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 µl zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků (a), (b), (c) a (d) a 30 µl porovnávacího roztoku (e) a vyvíjí se směsí objemových dílů diethylaminu R, vody R, methanolu, methoxyethanolu R a chloroformu R (0,5 + 2 + 5 + 20 + 100) po dráze 15 cm. Vrstva se suší na vzduchu do vymizení pachu rozpouštědel a v dobře větrané digestoři se postříká jodem v chloroformu RS a 15 min se suší při 60 °C. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající isoemetinu a cefaělinu není intenzivnější než skvrny na chromatogramech porovnávacích roztoků (b) a (c) (2,0 %) a žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrn odpovídajících isoemetinu a cefaělinu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (1,0 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) jsou tři zřetelně oddělené skvrny.

**Ztráta sušením** (2.2.32). 15,0 % až 19,0 %; 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

0,200 g se rozpustí ve směsi obsahující 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS a 50 ml lihu 96% R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 27,68 mg C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.

**Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

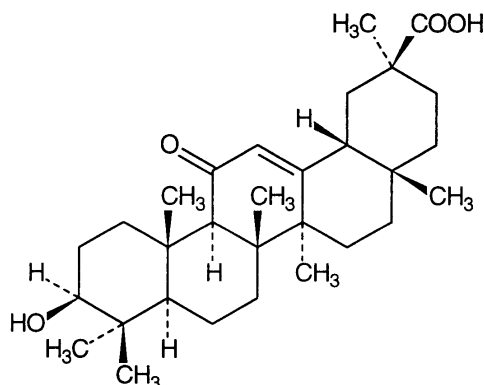
“

76. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Enoxaparinum natricum doplňuje článek Enoxolonum, který zní:

”

**Enoxolonum**

Enoxolon

 $C_{30}H_{46}O_4$  $M_r$  470,69

CAS 471-53-4

Je to kyselina 3β-hydroxy-11-oxoolean-12-en-30-ová.

Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{30}H_{46}O_4$ .

**Vlastnosti**

*Vzhled.* Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek.

*Rozpustnost.* Prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v ethanolu, mírně rozpustný v dichlormethanu.

Vyazuje polymorfismus.

**Zkoušky totožnosti**

*Základní zkouška:* A.

*Alternativní sestava zkoušek:* B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

*Porovnání. S enoxolonem CRL.* Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně 0,2 g zkoušené látky a 0,2 g referenční látky v 6 ml *ethanolu R*. Vaří se 1 h pod zpětným chladičem a přidá se 6 ml *vody R*, tvoří se sraženina. Ochladí se asi na 10 °C a zfiltruje se za pomoci vakua. Sraženina se promyje 10 ml *lihu 96% R*, usuší se v sušárně při 80 °C a zaznamenají se nová spektra.

**B.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*

*Zkoušený roztok.* 10 mg se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 10 mg *enoxolonu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Mobilní fáze.* Směs objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetonu R* a *dichlormethanu R* (5 + 10 + 90).

*Nanášení.* Po 5 µl.

*Vyvíjení.* Po dráze menší než 2/3 vrstvy.

*Sušení.* Na vzduchu 5 min.

*Detekce.* Vrstva se postříká se *anisaldehydem RS* a zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C.

*Limit.* Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**C.** 50 mg se rozpustí v 10 ml *dichlormethanu R*. Ke 2 ml tohoto roztoku se přidá 1 ml *acetanhydridu R* a 0,3 ml *kyseliny sírové R*; vzniká růžové zbarvení.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,1 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 10 ml. Takto připravený roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $\check{Z}_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +145° až +154°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,50 g v *dioxanu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,10 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 0,1 g *kyseliny 18 $\alpha$ -glycyrrhetinové R* se rozpustí v *tetrahydrofuranu R* a zředí se jím na 100,0 ml. Ke 2,0 ml tohoto roztoku se přidají 2,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

*Kolona:*

- velikost: délka je 0,25 m, vnitřní průměr je 4,6 mm,

- stacionární fáze: *silikagel oktadecylsilanizovaný pro chromatografii R* (5 µm),

- teplota: 30 °C.

*Mobilní fáze.* Připraví se směs objemových dílů *tetrahydrofuranu R* a roztoku *octanu sodného R* (1,36 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou ledovou R* na hodnotu 4,8, (430 + 570).

*Průtoková rychlost.* 0,8 ml/min.

*Detekce.* Spektrofotometr při 250 nm.

*Nástřík.* Nastříkuje se po 20 µl za použití injektorové smyčky.

*Doba záznamu.* Čtyřnásobek retenčního času enoxolonu.

*Test způsobilosti systému:*

- rozlišení: nejméně 2,0 mezi píky enoxolonu a *kyseliny 18 $\alpha$ -glycyrrhetinové* na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

*Limity:*

- další nečistota: nejvýše sedminásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,7 %),

- celkový obsah všech nečistot: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (2,0 %),

- zanedbatelnost píků: 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %).

**Těžké kovy** (2.4.8). Nejvýše 20 µg/g; 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce F. Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg *Pb/ml*).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 4 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

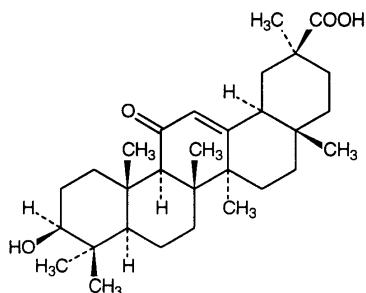
0,330 g se rozpustí v 40 ml *dimethylformamidu R* a titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Provede se slepá zkouška.

1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 47,07 mg  $C_{30}H_{46}O_4$ .

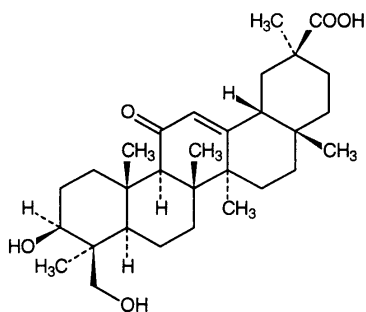
### Uchovávání

Chráněn před světlem.

### Nečistoty



A. kyselina 3 $\beta$ -hydroxy-11-oxo-18 $\alpha$ -olean-12-en-30-ová,



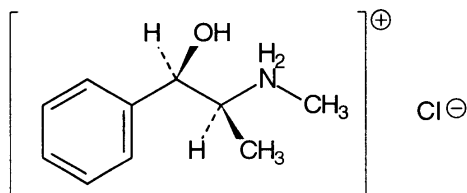
B. kyselina 3 $\beta$ ,24-dihydroxy-11-oxoolean-12-en-30-ová.

77. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ephedrini hydrochloridum zní:

”

## (§) † Ephedrini hydrochloridum

Efedriniumchlorid



$C_{10}H_{16}ClNO$

$M_r$  201,70

CAS 50-98-6

Je to (1*R*,2*S*)-(1-fenyl-1-hydroxy-2-propyl)methylamoniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{10}H_{16}ClNO$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.  
Taje při teplotě asi 219 °C.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *efedriniumchloridu CRL*.
- Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- K 0,1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml *vody R*, 0,2 ml *síranu měďnatého RS* a 1 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*; vznikne fialové zbarvení. Přidají se 2 ml *etheru R* a protřepe se; etherová vrstva je červenofialová a vodná vrstva je modrá.
- K 5 ml roztoku S se přidá 5 ml *vody R*. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 5,00 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 50,0 ml.

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

<sup>1)</sup> (1*R*,2*S*)-(1-fenyl-1-hydroxypropan-2-yl)methylamonium-chlorid

**Kyselý nebo zásaditě reagující látky.** K 10 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. Přidá se 0,4 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS; roztok je červený.

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).**  $-33,5^{\circ}$  až  $-35,5^{\circ}$ , počítáno na vysušenou látku; měří se 12,5 ml roztoku S zředěného vodou R na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

*Zkoušený roztok (a).* 0,2 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).* 20 mg efedriniumchloridu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí methanolem R na 200 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů chloroformu R, amoniaku 26% R a 2-propanolu R (5 + 15 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se ninhydrinem RS a zahřívá se 5 min při 110 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se ke skvrnám světlejším než je pozadí.

**Sírany (2.4.13).** 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100  $\mu$ g/g).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí v 50 ml lihu 96% R a přidá se 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS. Titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 20,17 mg  $C_{10}H_{16}ClNO$ .

### Uchovávání

Chráněn před světlem.

Prekursor. Separandum.

78. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ergocalciferolum zní:

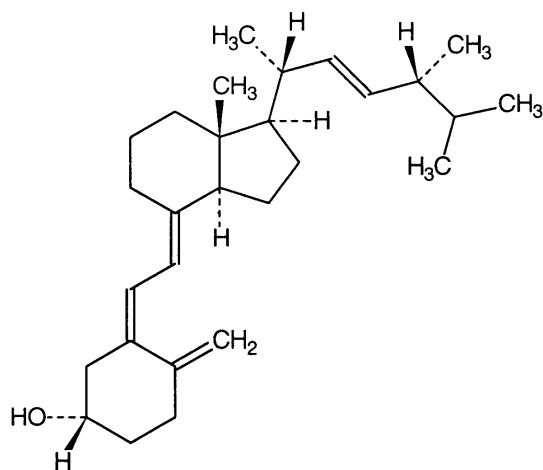
”

## † Ergocalciferolum

Ergokalciferol

*Synonyma.* Calciferolum, Vitaminum D<sub>2</sub>

2001



C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O

*M*, 396,65

CAS 50-14-6

Je to (5*Z*,7*E*,22*E*)-9,10-sekoergosta-5,7,10(19),22-tetraen-3β-ol. Obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny C<sub>28</sub>H<sub>44</sub>O. 1 mg ergokalciferolu odpovídá antirachitickou účinností na potkanech 40 000 m.j. vitaminu D.

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek, nebo bílé nebo téměř bílé krystaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, dobře rozpustný v mastných olejích. Vlivem vzduchu, tepla a světla se rozkládá. Roztoky v těkavých rozpouštědlech jsou nestabilní a připravují se v čas potřeby.

V roztoku dochází k reverzibilní izomerizaci na pre-ergokalciferol v závislosti na teplotě a času. Aktivita je dána oběma sloučeninami.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *ergokalciferolu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +103° až +107°; měří se roztok do 30 min připravený takto: 0,200 g se rychle a bez zahřívání rozpustí v lihu 96% prostém aldehydů R a zředí se jím na 25,0 ml.

**Redukující látky.** 0,1 g se rozpustí v lihu 96% prostém aldehydů R a zředí se jím na 10,0 ml. Přidá se 0,5 ml roztoku modři tetrazoliové R (5 g/l) v lihu 96% prostém aldehydů R a 0,5 ml tetramethylamoniumhydroxidu zředěného RS. Nechá se stát přesně 5 min a přidá se 1,0 ml kyseliny octové ledové R. Současně se stejným způsobem připraví



porovnávací roztok za použití 10,0 ml roztoku obsahujícího 0,2 µg *hydrochinonu R* v 1 ml *lihu 96% prostého aldehydů R*. Měří se absorbance (2.2.25) obou roztoků při 525 nm proti kontrolnímu roztoku, kterým je 10,0 ml *lihu 96% prostého aldehydů R* zpracovaného stejným způsobem. Absorbance zkoušeného roztoku není větší než absorbance porovnávacího roztoku (20 µg/l).

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

*Zkoušený roztok.* 0,25 g se rozpustí v *dichlorethanu R*, který obsahuje *squalan R* (10 g/l) a *butylhydroxytoluen R* (0,1 g/l) a zředí se stejným rozpouštědlem na 5 ml. Připraví se bezprostředně před použitím.

*Porovnávací roztok (a).* 0,10 g *ergokalciferolu CRL* se rozpustí v *dichlorethanu R*, který obsahuje *squalan R* (10 g/l) a *butylhydroxytoluen R* (0,1 g/l) a zředí se stejným rozpouštědlem na 2 ml. Připraví se bezprostředně před použitím.

*Porovnávací roztok (b).* 5 mg *ergosterolu CRL* se rozpustí v *dichlorethanu R*, který obsahuje *squalan R* (10 g/l) a *butylhydroxytoluen R* (0,1 g/l) a zředí se stejným rozpouštědlem na 50 ml. Připraví se bezprostředně před použitím.

*Porovnávací roztok (c).* Smíchají se stejné objemové díly porovnávacího roztoku (a) a porovnávacího roztoku (b). Připraví se bezprostředně před použitím.

Na vrstvu se odděleně nanese 10 µl zkoušeného roztoku, 10 µl porovnávacího roztoku (a), 10 µl porovnávacího roztoku (b) a 20 µl porovnávacího roztoku (c). Využívá se ihned za ochrany před světlem směsí stejných objemových dílů *cyklohexanu R* a *etheru prostého peroxidických látek R*, která obsahuje *butylhydroxytoluen R* (0,1 g/l), po dráze 15 cm. Po usušení na vzduchu se vrstva třikrát postříká *chloridem antimonitým RS1*. Chromatogramy se hodnotí za 3 min až 4 min po postříkání. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku je zpočátku oranžově žlutá a potom se zbarví hnědě. Na chromatogramu zkoušeného roztoku těsně pod hlavní skvrnou může být patrna pomalu se objevující fialová skvrna (odpovídající ergosterolu), která není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %). Na chromatogramu zkoušeného roztoku nejsou jiné skvrny, než které jsou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

## Stanovení obsahu

*Zkouška se provede co nejrychleji za ochrany před světlem a vzduchem.*

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 10,0 mg se rozpustí bez zahřívání v 10,0 ml *toluenu R* a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10,0 mg *ergokalciferolu CRL* se bez zahřívání rozpustí v 10,0 ml *toluenu R* a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml *cholecalciferolu pro test způsobilosti CRL* se zředí mobilní fází na 5,0 ml. Roztok se zahřívá 45 min ve vodní lázni při 90 °C pod zpětným chladičem a ochladí se.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné vhodným silikagelem (5 µm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *pentanolu R* a *hexanu R* (3 + 997); průtoková rychlost je 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Automatickým dávkovačem nebo injektorovou smyčkou se nastříkne vhodný objem porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nástřík se opakuje šestkrát. Pokud jsou chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, jsou přibližné relativní retenční časy, vzhledem k cholecalciferolu, následující: 0,4 pro pre-cholecalciferol a 0,5 pro *trans*-cholecalciferol. Relativní směrodatná odchylka odezvy pro cholecalciferol není větší než 1 % a rozlišení pro píky pre-cholecalciferolu a *trans*-cholecalciferolu není menší než 1,0. Je-li třeba, upraví se složení a průtoková rychlost mobilní fáze tak, aby bylo dosaženo uvedeného rozlišení.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (a) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se stejný objem zkoušeného roztoku a zaznamená se chromatogram stejným způsobem.

Obsah ergokalciferolu v procentech se vypočítá ze vzorce:

$$\frac{m'}{m} \cdot \frac{S_D}{S'_D} \cdot 100,$$

v němž značí:

*m* - navážku zkoušené látky ve zkoušeném roztoku v miligramech,

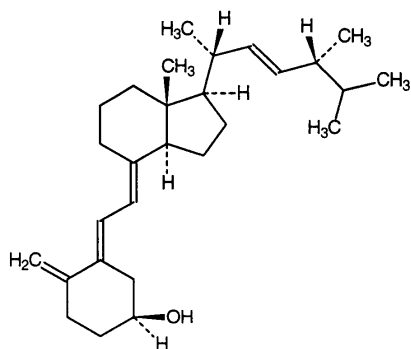
$m'$  - navážku ergokalciferolu CRL v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,  
 $S_D$  - plochu (nebo výšku) píku ergokalciferolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $S'_D$  - plochu (nebo výšku) píku ergokalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

### Uchovávání

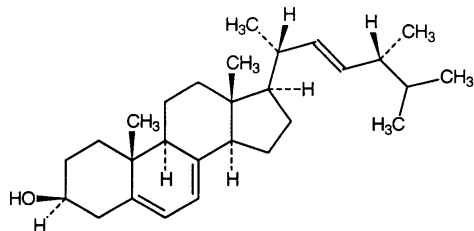
Ve vzduchotěsných obalech v atmosféře dusíku, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Obsah otevřených obalů se ihned spotřebuje.

Separandum.

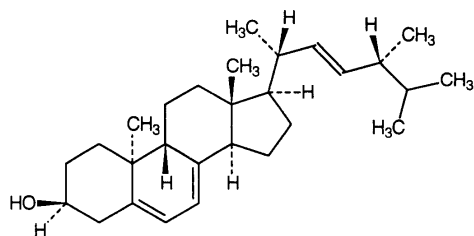
### Nečistoty



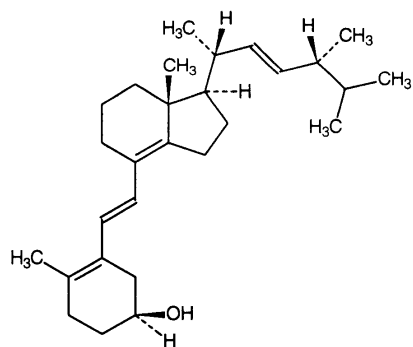
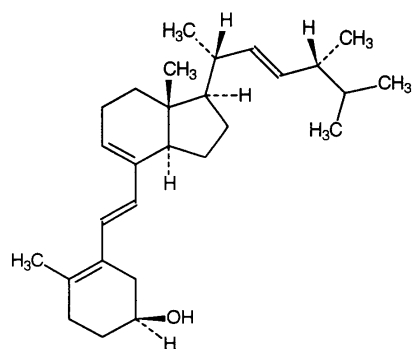
A. (5*E*,7*E*,22*E*)-9,10-sekoergosta-5,7,10(19),22-tetraen-3β-ol (*trans*-vitamin D<sub>2</sub>),



B. (22*E*)-ergosta-5,7,22-trien-3β-ol (ergosterol),



C. (22*E*)-9β,10α-ergosta-5,7,22-trien-3β-ol (lumisterol<sub>2</sub>),

D. (6*E*,22*E*)-9,10-sekoergosta-5(10),6,8(14),22-tetraen-3β-ol (iso-tachysterol<sub>2</sub>),E. (6*E*,22*E*)-9,10-sekoergosta-5(10),6,8,22-tetraen-3β-ol (tachysterol<sub>2</sub>).

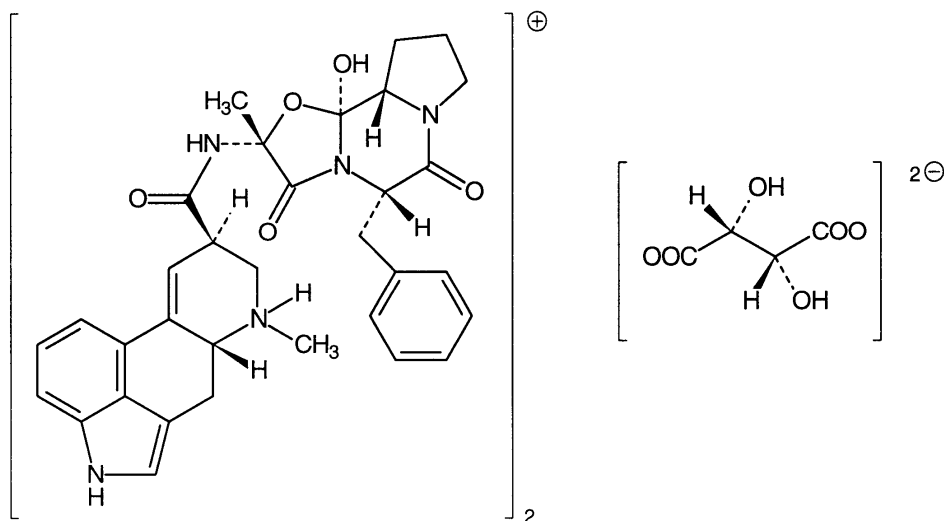
79. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ergotamini tartras zní:

”

## (§) †† Ergotamini tartras

Ergotaminiumtartarat

*Synonyma.* Ergotaminium tartaricum, vínan ergotamina



$C_{70}H_{76}N_{10}O_{16}$

$M_r$  1313,43

CAS 379-79-3

Je to bis[(6a*R*,9*R*)-9-{*N*-[(2*R*,5*S*,10a*S*,10b*S*)-5-benzyl-10-hydroxy-2-methyl-3,6-dioxo-2,3,5,6,9,10,10a,10b-oktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]karbamoyl}-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-7-ium]-tartarat<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{70}H_{76}N_{10}O_{16}$ . Může obsahovat dvě molekuly krystalového methanolu.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je slabě hygroskopický, těžce rozpustný v lihu 96%. Vodné roztoky se pomalu kalí následkem hydrolyzy; tomu lze předejít přidáním kyseliny vinné.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a C.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

<sup>1)</sup> bis[(6a*R*,9*R*)-9-{*N*-[(2*R*,5*S*,10a*S*,10b*S*)-5-benzyl-10-hydroxy-2-methyl-3,6-dioxo-2,3,5,6,9,10,10a,10b-oktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]karbamoyl}-7-methyl-4,6,6a,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-7-ium]-tartarat

- A.** 50 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS* a zředí se jí na 100,0 ml. 10,0 ml roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* na 100,0 ml a měří se absorbance (2.2.25) při 250 nm až 360 nm. Roztok vykazuje absorpční maximum při 311 nm až 321 nm a minimum při 265 nm až 275 nm. Specifická absorbance v maximu je 118 až 128, počítáno na vysušenou látku.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *ergotaminiumtartaratu CRL*. Zkoušená látka a referenční látka se rozetřou a odděleně se smíchají s 0,2 ml *methanolu R* a poté s *bromidem draselným R* způsobem popsáním v obecné stati.
- C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Vrstva se pozoruje nejvýše 1 min v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá svou polohou a fluorescencí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Po postřiku *dimethylaminobenzaldehydem RS7* se vrstva pozoruje v denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá svou polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D.** K 0,1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml *kyseliny octové ledové R*, 0,05 ml *chloridu železitého RS1* a 1 ml *kyseliny fosforečné R* a zahřívá se ve vodní lázni při 80 °C. Asi po 10 min vzniká modré nebo fialové zbarvení, které se stáním stává intenzivnějším.
- E.** Asi 10 mg se rozpustí v 1,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS*. Roztok se převede do dělicí nálevky a třepe se s 5 ml *dichlormethanu R*. Organická vrstva se odstraní a vodná vrstva se zneutralizuje několika kapkami *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. 0,1 ml tohoto roztoku vyhovuje zkoušce (b) na vlnány (2.3.1). Reakční směs se nalije do 1 ml *vody R*; vzniká červené nebo hnědavě červené zbarvení.

### Zkoušky na čistotu

*Zkoušky se provádějí co nejrychleji, za ochrany před světlem.*

**Roztok S.** 30 mg se jemně rozetře s asi 15 mg *kyseliny vinné R* a rozpustí se třepáním v 6 ml *vody R*.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $\check{Z}_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH.** 4,0 až 5,5; měří se suspenze připravená takto: 10 mg se jemně upráškuje a třepe se se 4 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-154^\circ$  až  $-165^\circ$ , počítáno z úhlu otočení a koncentrace ergotaminové báze. Měří se následující roztok: 0,40 g se rozpustí ve 40 ml roztoku *kyseliny vinné R* (10 g/l). Přidá se 0,5 g *hydrogenuhličitanu sodného R*, opatrně v několika dávkách, a důkladně se promíchá. Třepe se čtyřikrát s 10 ml *chloroformu R*, který byl předem promyt pětkrát 50 ml *vody R* na 100 ml *chloroformu R*. Organické vrstvy se spojí a zfiltrují přes malý filtr zvlhčený *chloroformem R*, promytým výše popsáním postupem. Filtrát se zředí *chloroformem R*, promytým výše uvedeným postupem, na 50,0 ml. Změří se úhel otočení roviny polarizovaného světla.

Množství ergotaminové báze v chloroformovém roztoku se stanoví takto: k 25,0 ml chloroformového roztoku se přidá 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,05 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,05 mol/l VS* odpovídá 29,08 mg  $C_{33}H_{35}N_5O_5$ .

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

*Zkoušené a porovnávací roztoky se připraví bezprostředně před použitím v dále uvedeném pořadí.*

**Porovnávací roztok (a).** 10 mg *ergotaminiumtartaratu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 7,5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** Ke 2,0 ml porovnávacího roztoku (b) se přidají 4,0 ml směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9).

**Zkoušený roztok (a).** 50 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 5,0 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) na 10,0 ml.

Na vrstvu se ihned odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého porovnávacího roztoku a potom po 5  $\mu$ l každého zkoušeného roztoku. Nanesené body se ihned exponují párami amoniaku přesně 20 s pohybem desky ze strany na stranu nad kádinkou vysokou 55 mm a 45 mm v průměru, obsahující asi 20 ml *amoniaku 26% R*. Start desky se suší přesně 20 s proudem studeného vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethanolu R*, *dichlormethanu R*, *dimethylformamidu R* a *etheru R* (5 + 10 + 15 + 70) po dráze 17 cm. Vrstva se suší asi 2 min v proudu studeného vzduchu a pozoruje se nejvýše 1 min v ultrafialovém světle při 365 nm pro zkoušku totožnosti. Vrstva se postříká v nadbytku *dimethylamino-benzaldehydem RS7* a asi 2 min se suší v proudu teplého vzduchu. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %) a nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 6,0 %; 0,100 g se suší 6 h ve vakuové sušárně při 95 °C.

### Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí ve 40 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,05 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,05 mol/l VS* odpovídá 32,84 mg  $C_{70}H_{76}N_{10}O_{16}$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných skleněných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.  
Prekursor. Venenum.

“

80. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Estriolum* doplňuje článek *Estrogena coniugata*, který zní:

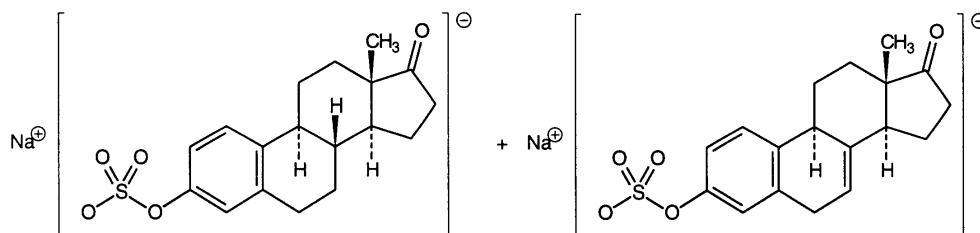
”

## † Estrogena coniugata

Konjugované estrogeny

*Synonymum*. Estrogeni coniuncti

2001



$C_{18}H_{21}NaO_5S + C_{18}H_{19}NaO_5S$

$M_r 372,41 + 370,40$

Jsou to triturace směsi různých konjugovaných forem estrogenů získaných z moči březích klisen nebo syntézou ve vhodném práškovém základu.

Dvě hlavní složky jsou: natrium-17-oxoestra-1,3,5(10)-trien-3-yl-sulfát<sup>1)</sup> (natrium-estron-sulfát)<sup>2)</sup> a natrium-17-oxoestra-1,3,5(10),7-tetraen-3-yl-sulfát<sup>3)</sup> (natrium-ekvilin-sulfát)<sup>4)</sup>. Průvodní látky jsou: natrium-17 $\alpha$ -estradiol-sulfát<sup>5)</sup>, natrium-17 $\alpha$ -dihydroekvilin-sulfát<sup>6)</sup> a natrium-17 $\beta$ -dihydroekvilin-sulfát<sup>7)</sup>.

Obsahují 52,5 % až 61,5 % natrium-estron-sulfátu, 22,5 % až 30,5 % natrium-ekvilin-sulfátu, 2,5 % až 9,5 % natrium-17 $\alpha$ -estradiol-sulfátu, 13,5 % až 19,5 % natrium-17 $\alpha$ -dihydroekvilin-sulfátu, 0,5 % až 4,0 % natrium-17 $\beta$ -dihydroekvilin-sulfátu. Celkový obsah natrium-estron-sulfátu a natrium-ekvilin-sulfátu je 79,5 % až 88,0 %.

Všechna procenta jsou vztažena k obsahu uvedenému v označení na obalu.

## Vlastnosti

Téměř bílý až nahnědlý amorfní prášek.

## Zkoušky totožnosti

- A.** Hodnotí se chromatogramy získané ve Stanovení obsahu. Retenční časy a velikosti dvou hlavních píků odpovídajících estronu a ekvilinu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídají přibližně dvěma hlavním píkům na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- B.** Hodnotí se chromatogram zkoušeného roztoku (b) získaný ve zkoušce Chromatografický profil, viz Zkoušky na čistotu. Na chromatogramu jsou patrné dodatečné píky odpovídající 17 $\alpha$ -estradiolu, 17 $\alpha$ -dihydroekvilinu a 17 $\beta$ -dihydroekvilinu, jejichž relativní retenční čas vzhledem k 3-O-methylestronu (vnitřní standard) je asi 0,24, 0,30 a 0,35.

## Zkoušky na čistotu

**Chromatografický profil.** Zkouška se provede způsobem popsaným ve Stanovení obsahu s následujícími dodatečnými informacemi.

*Zkoušený roztok (b).* Připraví se zkoušený roztok způsobem popsaným ve Stanovení obsahu, bez přidavku sulfáty a použije se 6,0 ml horní vrstvy místo 3,0 ml. Stejným způsobem se připraví kontrolní roztok.

*Porovnávací roztok (b).* Připraví se porovnávací roztok způsobem popsaným ve Stanovení obsahu. Před přidáním vnitřního standardu se roztok desetinasobně zředí *ethanolem R*.

Nastříkne se 1  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a) a měří se plochy píků 17 $\alpha$ -dihydroekvilinu, estronu a 3-O-methylestronu s relativním retenčním časem, vzhledem k 3-O-methylestronu, asi 0,30, 0,80 a 1.

Nastříkne se 1  $\mu$ l zkoušeného roztoku (a) a určí se píky s relativním retenčním časem, vzhledem k 3-O-methylestronu (1) asi 0,24, 0,29, 0,30, 0,35, 0,56, 0,64, 0,90 a 1,3 a změří se jejich plochy.

Procentuální obsah složek, vyskytujících se jako soli síranu sodného, se vypočítá podle níže uvedeného vztahu (1).

Nastříkne se 1  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) a měří se plochy píků estronu a 3-O-methylestronu s relativním retenčním časem, vzhledem k 3-O-methylestronu, asi 0,80 a 1.

Nastříkne se 1  $\mu$ l zkoušeného roztoku (b) a určí se píky s relativním retenčním časem, vzhledem k 3-O-methylestronu, asi 0,30, 0,80 a 0,87 a změří se součet jejich ploch.

Procentuální obsah 17 $\alpha$ -dihydroekvilinu, estronu a ekvilinu, které se vyskytují jako volné steroidy se vypočítá podle vztahu (2):

<sup>1)</sup> natrium-17-oxoestra-1,3,5(10)-trien-3-yl-sulfát

<sup>2)</sup> natrium-estron-sulfát

<sup>3)</sup> natrium-17-oxoestra-1,3,5(10),7-tetraen-3-yl-sulfát

<sup>4)</sup> natrium-ekvilin-sulfát

<sup>5)</sup> natrium-17 $\alpha$ -estradiol-sulfát

<sup>6)</sup> natrium-17 $\alpha$ -dihydroekvilin-sulfát

<sup>7)</sup> natrium-17 $\beta$ -dihydroekvilin-sulfát

$$\frac{S'_A \cdot S_i \cdot m_R \cdot 137,8 \cdot 1000}{S_R \cdot S'_i \cdot m \cdot LC} \quad (1),$$

$$\frac{S'_{FS} \cdot S_i \cdot m_E \cdot 100 \cdot 1000}{S_E \cdot S'_i \cdot m \cdot LC} \quad (2),$$

v nichž značí:

- $S_i$  - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku,  
 $S'_i$  - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $S_R$  - plochu píku referenční látky (viz tabulka 1) na chromatogramu porovnávacího roztoku,  
 $S'_A$  - plochu píku analytu na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $m_R$  - navážku porovnávací látky (viz tabulka 1) v miligramech v odpovídajícím porovnávacím roztoku,  
 $m$  - navážku zkoušené látky v miligramech v odpovídajícím zkoušeném roztoku,  
 $S'_{FS}$  - součet ploch píků 17 $\alpha$ -dihydroekvilinu, estronu a ekvilinu na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $S_E$  - plochu píku *estronu CRL* na chromatogramu porovnávacího roztoku,  
 $m_E$  - navážku *estronu CRL* v miligramech v odpovídajícím porovnávacím roztoku,  
 $LC$  - obsah v miligramech na gram uvedený v označení na obalu.

Rozmezí procentuálních obsahů:

- natrium-17 $\alpha$ -estradiolsulfat: 2,5 % až 9,5 %,  
natrium-17 $\alpha$ -dihydroekvilin-sulfat: 13,5 % až 19,5 %,  
natrium-17 $\beta$ -dihydroekvilin-sulfat: 0,5 % až 4,0 %,  
natrium-17 $\beta$ -estradiolsulfat: nejvýše 2,25 %,  
natrium-17 $\alpha$ -dihydroekvilenin-sulfat: nejvýše 3,25 %,  
natrium-17 $\beta$ -dihydroekvilenin-sulfat: nejvýše 2,75 %,  
natrium-8,9-didehydroestron-sulfat: nejvýše 6,25 %,  
natrium-ekvilenin-sulfat: nejvýše 5,5 %,  
celkový estron, ekvilin a 17 $\alpha$ -dihydroekvilin: nejvýše 1,3 %.

**Tab. 1**

Relativní retenční čas (vzhledem k 3-O-methylestronu)	Látka	Referenční látka	Přítomný jako
0,24	17 $\alpha$ -estradiol	17 $\alpha$ -dihydroekvilin CRL	sůl síranu sodného
0,29	17 $\alpha$ -estradiol	estron CRL	sůl síranu sodného
0,30	17 $\alpha$ -dihydroekvilin	17 $\alpha$ -dihydroekvilin CRL	volný steroid, sůl síranu sodného (stanovení obsahu)
0,35	17 $\beta$ -dihydroekvilin	17 $\alpha$ -dihydroekvilin CRL	sůl síranu sodného
0,56	17 $\alpha$ -dihydroekvilenin	estron CRL	sůl síranu sodného
0,64	17 $\beta$ -dihydroekvilenin	estron CRL	sůl síranu sodného
0,80	estron	estron CRL	volný steroid, sůl síranu sodného (stanovení obsahu)
0,87	ekvilin	ekvilin CRL	volný steroid, sůl síranu sodného (stanovení obsahu)
0,90	8,9-didehydroestron	estron CRL	sůl síranu sodného
1	3-O-methylestron	vnitřní standard	
1,3	ekvilenin	estron CRL	sůl síranu sodného



## Stanovení obsahu

Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití 3-O-methylestronu R, jako vnitřního standardu.

**Roztok vnitřního standardu.** 8 mg 3-O-methylestronu R se rozpustí v 10,0 ml ethanolu R. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí ethanolom R na 10,0 ml.

**Tlumivý roztok octanový o pH 5,2.** 10 g octanu sodného R se rozpustí ve 100 ml vody R a přidá se 10 ml kyseliny octové zředěné RS, zředí se vodou R na 500 ml a pH se upraví na hodnotu  $5,2 \pm 0,1$ .

**Zkoušený roztok (a).** Podle obsahu uvedeného v označení na obalu se převede přesně zvážené množství odpovídající asi 2 mg konjugovaných estrogenů do 50ml odstředivací zkumavky obsahující 15 ml tlumivého octanového roztoku o pH 5,2 a 1 g chloridu barnatého R. Zkumavka se těsně uzavře a 30 min se třepe. Je-li třeba, pH roztoku se upraví kyselinou octovou R nebo roztokem octanu sodného R (120 g/l) na hodnotu  $5,0 \pm 0,5$ . Na 30 s se vloží do ultrazvukové lázně a pak se třepe 30 min. Přidá se vhodný sulfatový přípravek odpovídající 2500 jednotkám a 10 min se třepe mechanicky ve vodní lázni při  $(50 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Obsah zkumavky se ručně kruživým pohybem promíchá, pak se 10 min třepe mechanicky ve vodní lázni a nechá se ochladit. Ke směsi se přidá 15,0 ml dichlorethanu R, zkumavka se ihned těsně uzavře a třepe se 15 min. Odstředuje se 10 min nebo do vyčerení spodní vrstvy. Organická vrstva se převede do zkumavky se šroubovacím uzávěrem a přidá se 5 g síranu sodného bezvodého R a protřepe se. Roztok se nechá stát do vyčerení, při čemž se chrání před ztrátou odpařením.

3,0 ml čirého roztoku se převede do vhodné odstředivací zkumavky se šroubovacím uzávěrem a přidá se 1,0 ml roztoku vnitřního standardu. Tato směs se odpaří do sucha v proudě dusíku R při teplotě nižší než  $50^\circ\text{C}$ . K vysušenému zbytku se přidá 15  $\mu\text{l}$  pyridinu bezvodého R a 65  $\mu\text{l}$  N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoracetamidu R obsahujícího 1 % chlotrimethylsilanu R. Zkumavka se ihned těsně uzavře, opatrně se promíchá a nechá se 15 min stát, pak se přidá 0,5 ml toluenu R

a mechanicky se promíchá.

**Porovnávací roztok (a).** Rozpustí se odděleně 8 mg estronu CRL, 7 mg ekvilinu CRL a 5 mg 17 $\alpha$ -dihydroekvilinu CRL v 10,0 ml ethanolu R. 2,0 ml, 1,0 ml a 1,0 ml těchto roztoků se smíchají a zředí se ethanolom R na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku a 1,0 ml roztoku vnitřního standardu se převedou do odstředivací zkumavky se šroubovacím uzávěrem, odpaří se do sucha v proudě dusíku R při teplotě nižší než  $50^\circ\text{C}$ . K vysušení zbytku se přidá 15  $\mu\text{l}$  pyridinu bezvodého R a 65  $\mu\text{l}$  N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoracetamidu R obsahujícího 1% chlotrimethylsilanu R. Zkumavka se ihned těsně uzavře, opatrně se promíchá, nechá se 15 min stát a pak se přidá 0,5 ml toluenu R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kapilární křemenné kolony délky 15 m a vnitřního průměru asi 0,25 mm s vnitřním povrchem potaženým poly[[kyanpropyl](methyl)][[fenyl](methyl)] siloxanem R (tloušťka filmu 0,25  $\mu\text{m}$ ),
- dusíku pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 2 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1 : 20 až 1 : 30.

Teplota kolony se udržuje na  $220^\circ\text{C}$ , nástřikového prostoru a detektoru na  $260^\circ\text{C}$ . Teplota a průtoková rychlost nosného plynu se nastaví tak, aby bylo dosaženo požadovaného rozlišení.

Nastříkne se 1  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a). Relativní retenční časy 17 $\alpha$ -dihydroekvilinu, estronu, ekvilinu a 3-O-methylestronu, vzhledem k 3-O-methylestronu, jsou asi 0,30, 0,80, 0,87 a 1.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky estronu a vnitřního standardu je nejméně 1,2. Relativní směrodatná odchylka poměru ploch píky estronu a vnitřního standardu, získaná z nejméně šesti nástřiků, je nejvýše 2,0 %.

Nastříkne se 1  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a) a změří se plochy píků estronu nebo ekvilinu a O-methylestronu. Nastříkne se 1  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku (a) a změří se plochy píků estronu, ekvilinu a 3-O-methylestronu.

Obsah natrium-estron-sulfatu a natrium-ekvilin-sulfatu v procentech se vypočítá podle vztahu (1).

## Uchovávání

Chráněn před mrazem.

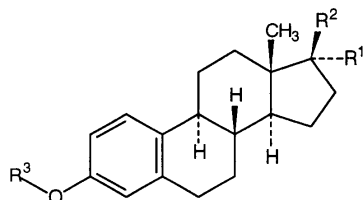
Separandum.

## Označování

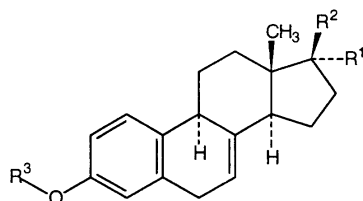
V označení na obalu se uvede:

- název látky,
- obsah látky,
- povaha rozpouštědla.

### Nečistoty a průvodní látky



- A.  $R^1 = \text{OH}$ ,  $R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{SO}_3\text{Na}$ : natrium-17 $\alpha$ -hydroxyestra-1,3,5(10)-trien-3-yl-sulfát<sup>8)</sup> (natrium-17 $\alpha$ -estradiol-sulfát)<sup>9)</sup>,
- D.  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{OH}$ ,  $R^3 = \text{SO}_3\text{Na}$ : natrium-17 $\beta$ -hydroxyestra-1,3,5(10)-trien-3-yl-sulfát<sup>10)</sup> (natrium-17 $\beta$ -estradiol-sulfát)<sup>11)</sup>,
- I.  $R^1, R^2 = \text{O}$ ,  $R^3 = \text{H}$ : 3-hydroxyestra-1,3,5(10)-trien-17-on (estron),



- B.  $R^1 = \text{OH}$ ,  $R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{SO}_3\text{Na}$ : natrium-17 $\alpha$ -hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-3-yl-sulfát<sup>12)</sup> (natrium-17 $\alpha$ -dihydroekvilin-sulfát)<sup>13)</sup>,
- C.  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{OH}$ ,  $R^3 = \text{SO}_3\text{Na}$ : natrium-17 $\beta$ -hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-3-yl-sulfát<sup>14)</sup> (natrium-17 $\beta$ -dihydroekvilin-sulfát)<sup>15)</sup>,
- J.  $R^1, R^2 = \text{O}$ ,  $R^3 = \text{H}$ : 3-hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-17-on (ekvilin),
- K.  $R^1 = \text{OH}$ ,  $R^2 = R^3 = \text{H}$ : estra-1,3,5(10),7-tetraen-3,17 $\alpha$ -diol (17 $\alpha$ -dihydroekvilin),

<sup>8)</sup> natrium-17 $\alpha$ -hydroxyestra-1,3,5(10)-trien-3-yl-sulfát

<sup>9)</sup> natrium-17 $\alpha$ -estradiol-sulfát

<sup>10)</sup> natrium-17 $\beta$ -hydroxyestra-1,3,5(10)-trien-3-yl-sulfát

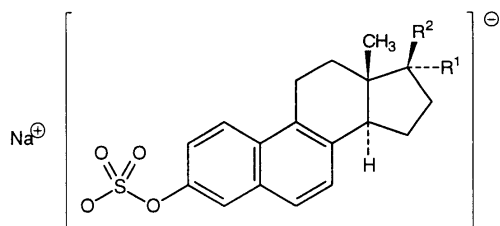
<sup>11)</sup> natrium-17 $\beta$ -estradiol-sulfát

<sup>12)</sup> natrium-17 $\alpha$ -hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-3-yl-sulfát

<sup>13)</sup> natrium-17 $\alpha$ -dihydroekvilin-sulfát

<sup>14)</sup> natrium-17 $\beta$ -hydroxyestra-1,3,5(10),7-tetraen-3-yl-sulfát

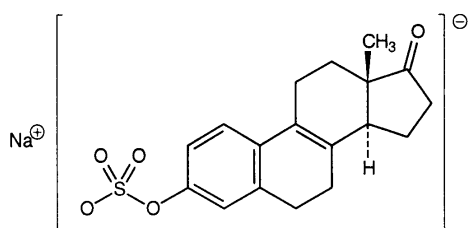
<sup>15)</sup> natrium-17 $\beta$ -dihydroekvilin-sulfát



E.  $R^1 = \text{OH}$ ,  $R^2 = \text{H}$ : natrium-17 $\alpha$ -hydroxyestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-3-yl-sulfát<sup>16)</sup> (natrium-17 $\alpha$ -dihydroekvilenin-sulfát)<sup>17)</sup>,

F.  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{OH}$ : natrium-17 $\beta$ -hydroxyestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-3-yl-sulfát<sup>18)</sup> (natrium-17 $\beta$ -dihydroekvilenin-sulfát)<sup>19)</sup>,

H.  $R^1, R^2 = \text{O}$ : natrium-17-oxoestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-3-yl-sulfát<sup>20)</sup> (natrium-ekvilenin-sulfát)<sup>21)</sup>,



G. natrium-17-oxoestra-1,3,5(10),8-tetraen-3-yl-sulfát<sup>22)</sup> (natrium-8,9-didehydroestron-sulfát)<sup>23)</sup>.

“

<sup>16)</sup> natrium-17 $\alpha$ -hydroxyestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-3-yl-sulfát

<sup>17)</sup> natrium-17 $\alpha$ -dihydroekvilenin-sulfát

<sup>18)</sup> natrium-17 $\beta$ -hydroxyestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-3-yl-sulfát

<sup>19)</sup> natrium-17 $\beta$ -dihydroekvilenin-sulfát

<sup>20)</sup> natrium-17-oxoestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-3-yl-sulfát

<sup>21)</sup> natrium-ekvilenin-sulfát

<sup>22)</sup> natrium-17-oxoestra-1,3,5(10),6,8-pentaen-3-yl-sulfát

<sup>23)</sup> natrium-8,9-didehydroestron-sulfát

81. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Etodolacum doplňuje článek Etofenamatum, který zní:

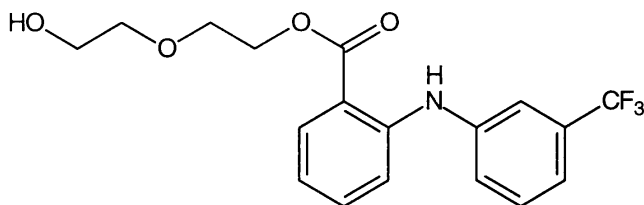
”

## Etofenamatum

Etofenamát



2001

 $C_{18}H_{18}F_3NO_4$  $M_r$  369,34

CAS 30544-47-9

Je to 2-(2-hydroxyethoxy)ethyl-2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoát<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{18}H_{18}F_3NO_4$ .

### Vlastnosti

*Vzhled.* Nažloutlá viskózní tekutina.

*Rozpustnost.* Prakticky nerozpustný ve vodě, mísitelný s ethylacetatem a s lihem 96%.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

*Porovnání.* S etofenamatem CRL.

*Příprava.* Měří se látky ve formě filmu.

### Zkoušky na čistotu

*Vzhled.* Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a není zbarvena intenzivněji než porovnávací barevný roztok ZZ<sub>1</sub> (2.2.2, Metoda II).

*Nečistota F.* Nejvýše 0,1 %; provede se plynová chromatografie (2.2.28).

*Vnitřní standard.* Tetradekan R.

*Roztok A.* 6,0 mg tetradekanu R se rozpustí v hexanu R a zředí se jím na 10,0 ml.

*Roztok B.* K 6,0 mg diethylenglykolu R v 10ml odměrné baňce se přidají 3 ml *N*-methyltrimethylsilyl-trifluoracetamidu R a zahřívá se 30 min při 50 °C. Po ochlazení se zředí *N*-methyltrimethylsilyl-trifluoracetamidem R na 10,0 ml.

*Zkoušený roztok.* K 0,200 g se přidá 10 µl roztoku A a 2 ml *N*-methyltrimethylsilyl-trifluoracetamidu R a zahřívá se 30 min při 50 °C.

*Porovnávací roztok.* K 2,0 ml *N*-methyltrimethylsilyl-trifluoracetamidu R se přidá 10 µl roztoku A a 10 µl roztoku B.

<sup>1)</sup> 2-(2-hydroxyethoxy)ethyl-2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoát

**Kolona:**

- *rozměry*: délka je 25 m, vnitřní průměr je 0,20 mm,
- *stacionární fáze*: vrstva *poly(difenyl)(dimethyl)siloxanu R* (tloušťka filmu 0,33 μm).

*Nosný plyn. Vodík pro chromatografii R.*

*Průtoková rychlost*. 0,9 ml/min.

*Teplotní program*:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)
kolona	0 - 13	60 → 150	7
	13 - 19	150 → 300	25
	19 - 34	300	
nástříkový prostor		150	
detektor		300	

*Detekce*. Plamenoionizační detektor.

*Nástřík*. Nástříkuje se přímo po 0,2 μl zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku.

**Příbuzné látky**. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok*. 50,0 mg se rozpustí ve 30 ml *methanolu R* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a)*. 10,0 mg *etofenamatu nečistoty G CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20,0 ml. 0,2 ml tohoto roztoku se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (40 + 60) na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b)*. 0,2 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (40 + 60) na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c)*. K 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 5,0 ml porovnávacího roztoku (b).

*Porovnávací roztok (d)*. 10,0 mg *etofenamatu pro test způsobilosti CRL* (obsahuje *etofenamat* s *přídavkem 1 % nečistot A, B, C, D a E*) se rozpustí v 6,0 ml *methanolu R* a zředí se *vodou R* na 10,0 ml.

**Kolona:**

- *rozměry*: délka je 0,10 m, vnitřní průměr je 4,0 mm,
- *stacionární fáze*: *silikagel oktadecylsilanizovaný pro chromatografii R* (3 μm),
- *teplota*: 40 °C.

**Mobilní fáze:**

- *mobilní fáze A*: 1,3 g *hydrogenfosforečnanu amonného R* a 4,0 g *tetrabutylamoniumhydroxidu R* se rozpustí v 900 ml *vody R*, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 8,0 a zředí se *vodou R* na 1000 ml,
- *mobilní fáze B*: *methanol R*,

gradientový program:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 3	40	60
13 - 20	40 → 10	60 → 90
20 - 25	10	90
25 - 26	10 → 40	90 → 60
26 - 31	40	60

*Průtoková rychlost*. 1,2 ml/min.

*Detekce*. Spektrofotometr při 286 nm.

*Nástřík*. 20 μl.

**Test způsobilosti systému:**

- *retenční časy*: nečistota A = 3 min; nečistota C = 9 min; nečistota G = 11 min; *etofenamat* = 13 min; nečistota E = 20 min; nečistota B = 21 min; nečistota D = 22 min,

- *rozlišení*: nejméně 2,3 mezi píkem nečistoty G a píkem etofenamatu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

*Limity*:

- *korekční faktory*: korigované plochy píků se získají za použití následujících korekčních faktorů: nečistota A = 0,62; nečistota C = 0,45; nečistota D = 0,77,
- *nečistota A* (korigovaná plocha): nejvýše 1,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %),
- *nečistota B*: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %);
- *nečistota C* (korigovaná plocha): nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %),
- *nečistota D* (korigovaná plocha): nejvýše 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %),
- *nečistota E*: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %),
- *nečistota G*: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %),
- *jakákoliv další nečistota*: nejvýše polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %),
- *celkový obsah všech nečistot*: nejvýše šestinásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,2 %).

**Těžké kovy (2.4.8)**. Nejvýše 10 µg/g; 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy. Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

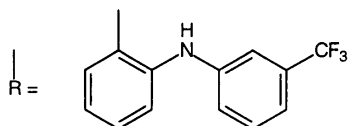
**Síranový popel (2.4.14)**. Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

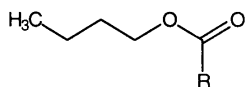
K 3,000 g se přidá 20,0 ml 2-propanolu R a 20,0 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS a 2 h se zahřívá pod zpětným chladičem. Přidá se 0,1 ml modří bromthymolové RS1 a po ochlazení se titruje kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS do odbarvení roztoku. Provede se slepá zkouška.

1 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS odpovídá 0,3694 g C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>4</sub>.

### Nečistoty

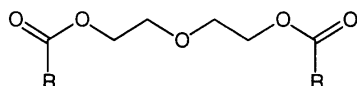


A. R-COOH: kyselina 2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoová (kyselina flufenamová),



B. butyl-2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoát (butylflufenamát)<sup>2)</sup>,

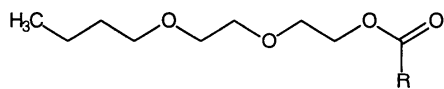
C. R-H: N-fenyl-3-(trifluormethyl)anilin<sup>3)</sup>,



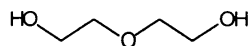
D. (oxydiethylen)-bis{2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoát}<sup>4)</sup>,

<sup>2)</sup> butyl-2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoát (butylflufenamát)

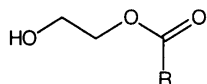
<sup>3)</sup> N-fenyl-3-(trifluormethyl)anilin



E. [2-(2-butoxyethoxy)ethyl]-2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoát<sup>5)</sup>,

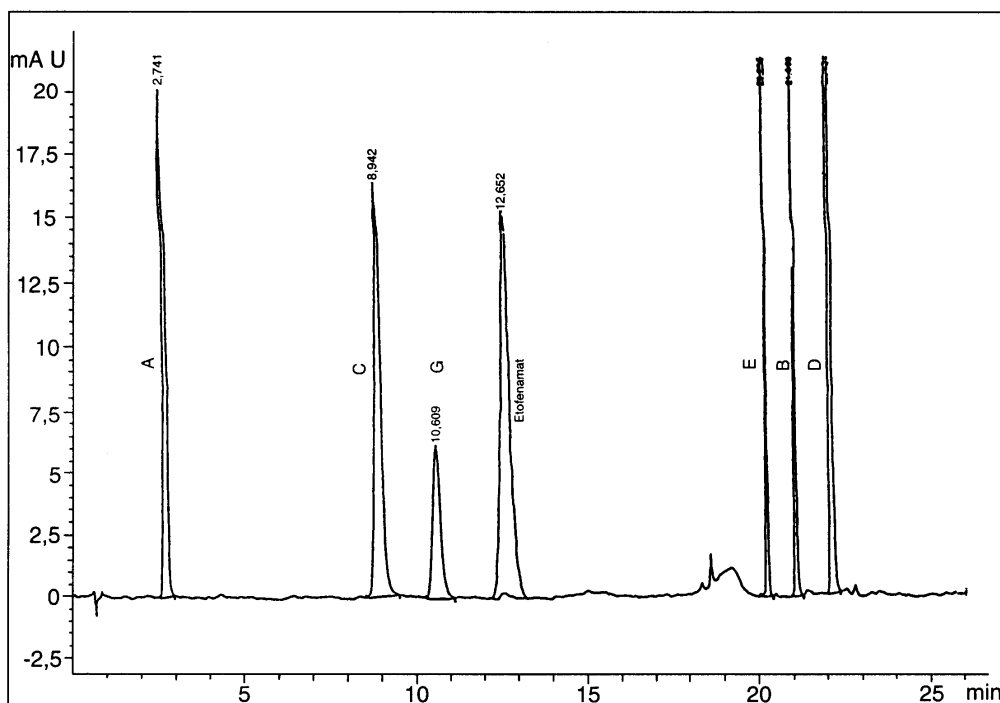


F. 2,2'-oxydiethanol<sup>6)</sup> (diethylenglykol),



G. (2-hydroxyethyl)-2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoát<sup>7)</sup>.

Následující chromatogram je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.



Obr. 1 Vzorový chromatogram pro zkoušku Příbuzné látky

“

<sup>4)</sup> (oxydiethylen)-bis(2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoát)

<sup>5)</sup> [2-(2-butoxyethoxy)ethyl]-2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoát

<sup>6)</sup> 2,2'-oxydiethan-1-ol

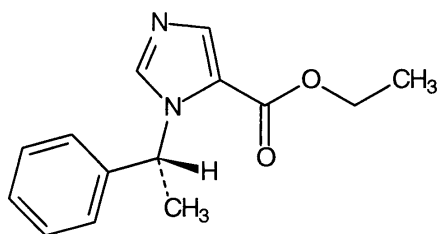
<sup>7)</sup> (2-hydroxyethyl)-2-[3-(trifluormethyl)anilino]benzoát

82. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Etofyllinum doplňuje článek Etoimidatum, který zní:

”

## † Etomidatum

Etomidát

 $C_{14}H_{16}N_2O_2$  $M_r$  244,29

CAS 33125-97-2

Je to ethyl-1-[(1R)-1-fenylethyl]-1H-imidazol-5-karboxylát<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{14}H_{16}N_2O_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu. Taje při asi 68 °C.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *etomidatu CRL*.  
B. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,25 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

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

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +67° až +70°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 0,100 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *ethanolu R* a *vody R* (50 + 50) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 5,0 mg *etomidatu CRL* a 5,0 mg *etomidatu nečistoty B CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *ethanolu R* a *vody R* (50 + 50) a zředí se stejnou směsí na 250,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *ethanolu R* a *vody R* (50 + 50) na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 25,0 ml.

<sup>1)</sup> ethyl-1-[(1R)-1-fenylethyl]-1H-imidazol-5-karboxylát



Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagemem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 2,0 ml/min a s následujícím gradientovým programem:
  - *mobilní fáze A* - roztok *uhličitanu amonného R* (5 g/l),
  - *mobilní fáze B* - *acetonitril R*.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 5	90 → 30	10 → 70	lineární gradient
5 - 6	30 → 10	70 → 90	lineární gradient
6 - 10	10	90	izokraticky
10 - 11	10 → 90	90 → 10	lineární gradient
11 - 15	90	10	znovuustalování

- spektrofotometrického detektoru, 235 nm.

Kolona se promývá do ustavení rovnováhy nejméně 30 min *acetonitrem R* a pak se ustálí promýváním mobilní fází o počátečním složení po dobu nejméně 5 min.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) získaného při nástřiku 10 μl byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy nečistoty B asi 4,5 min a etomidatu asi 5,0 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem nečistoty B a píkem etomidatu je nejméně 5,0. Pokud je třeba, upraví se koncentrace *uhličitanu amonného R* v mobilní fázi nebo časový program lineárního gradientu.

Nastříkne se 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) (0,2 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 4 h ve vakuu při 40 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

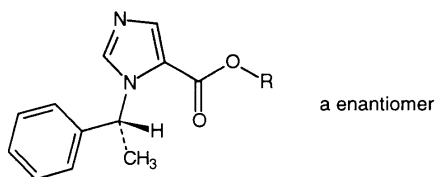
### Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí v 50 ml 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 24,43 mg C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

**Nečistoty**

- A. R = H: kyselina 1-[(1*RS*)-1-fenylethyl]-1*H*-imidazol-5-karboxylová,  
 B. R = CH<sub>3</sub>: methyl-1-[(1*RS*)-1-fenylethyl]-1*H*-imidazol-5-karboxylát<sup>2)</sup> (metomidát),  
 C. R = CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: isopropyl-1-[(1*RS*)-1-fenylethyl]-1*H*-imidazol-5-karboxylát<sup>3)</sup>.

“

83. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Eucalypti etheroleum* zní:

”

**Eucalypti etheroleum**

Blahovičnicková silice

*Synonyma.* Oleum eucalypti, *Eucalypti aetheroleum*2001 

Je to silice získaná z čerstvých listů nebo čerstvých koncových větví různých druhů rodu *Eucalyptus* bohatých na 1,8-cineol, zejména *Eucalyptus globulus* LABILL., *Eucalyptus fructicetorum* F. v . MUELL. (*Eucalyptus polybractea* R.T BAK.) a *Eucalyptus smithii* R.T. BAK. destilací s vodní párou a následnou rektifikací.

**Vlastnosti**

Bezbarvá nebo světle žlutá kapalina aromatického kafrového pachu a pronikavé kafrové chuti.

**Zkoušky totožnosti**

*Základní zkouška:* B.

*Alternativní zkouška:* A, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 0,1 g se rozpustí v *toluenu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 50 µl *cineolu R* se rozpustí v *toluenu R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl obou roztoků. Vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (10 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS*, suší se 5 min až

<sup>2)</sup> methyl-1-[(1*RS*)-1-fenylethyl]-1*H*-imidazol-5-karboxylát

<sup>3)</sup> isopropyl-1-[(1*RS*)-1-fenylethyl]-1*H*-imidazol-5-karboxylát

10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části skvrna cineolu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku hlavní skvrna odpovídá polohou a zbarvením skvrně cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je poblíž čela intenzivní fialová skvrna (uhlovodíky). Kromě toho zde mohou být patrné další, méně intenzivní skvrny.

**B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Chromatografický profil, viz Zkoušky na čistotu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku retenční časy pěti píků odpovídají retenčním časům pěti píků na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

**Relativní hustota** (2.2.5). 0,906 až 0,925.

**Index lomu** (2.2.6). 1,458 až 1,470.

**Optické otáčivost** (2.2.7). 0° až + 10°; měří se úhel optické otáčivosti.

**Rozpuštnost v lihu** (2.8.10). Rozpouští se v pěti objemových dílech lihu R 70 % (V/V).

**Aldehydy.** 10 ml zkoušené látky se převede do zkumavky o vnitřním průměru 25 mm a délky 150 mm se zabroušenou zátkou, přidá se 5 ml toluenu R a 4 ml hydroxylamoniumchloridu v lihu RS. Silně se protřepe a ihned se titruje hydroxidem draselným 0,5 mol/l v lihu 60 % VS do změny červeného zbarvení na žluté. V titraci se za protřepávání pokračuje; bod ekvivalence je dosažen, jestliže se žluté zbarvení spodní vrstvy nezmění do 2 min po důkladném protřepání

a následném oddělení vrstev. Reakce je ukončena do asi 15 min.

Stanovení se opakuje s dalšími 10 ml zkoušené látky. Jako porovnávací roztok pro bod ekvivalence se použije ztitrovaný roztok z prvního stanovení, k němuž se přidá 0,5 ml hydroxidu draselného 0,5 mol/l v lihu 60 % VS. Při druhé titraci se spotřebuje nejvýše 2,0 ml hydroxidu draselného 0,5 mol/l v lihu 60 % VS.

**Chromatografický profil.** Zkouší se metodou plynové chromatografie (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** Zkoušená látka.

**Porovnávací roztok.** 80 µl α-pinenu R, 10 µl β-pinenu R, 10 µl α-felandrenu R, 10 µl limonenu R, 0,8 ml cineolu R a 10 mg kafru R, se rozpustí v 10 ml acetonu R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 60 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou makrogolem 20 000 R,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1,5 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1 : 100.

Teplota kolony se udržuje po dobu 5 min na 60 °C, pak se zvyšuje rychlostí 5 °C/min až na 200 °C, při níž se udržuje 5 min, teplota nástřikového prostoru a detektoru se udržuje na 220 °C.

Nastříkne se asi 0,5 µl porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek eluují jednotlivé látky v pořadí uvedeném ve složení porovnávacího roztoku. Zaznamenají se retenční časy těchto látek. Zkoušku lze hodnotit, jestliže počet teoretických pater je nejméně 30 000, počítáno pro pík limonenu při 110 °C a rozlišení píků limonenu a cineolu je nejméně 1,5.

Nastříkne se asi 0,5 µl zkoušeného roztoku. Porovnáním retenčních časů píků na chromatogramu zkoušeného roztoku s retenčními časy píků na chromatogramu porovnávacího roztoku se identifikují látky přítomné ve zkoušeném roztoku.

Obsah jednotlivých látek v procentech se stanoví metodou normalizace.

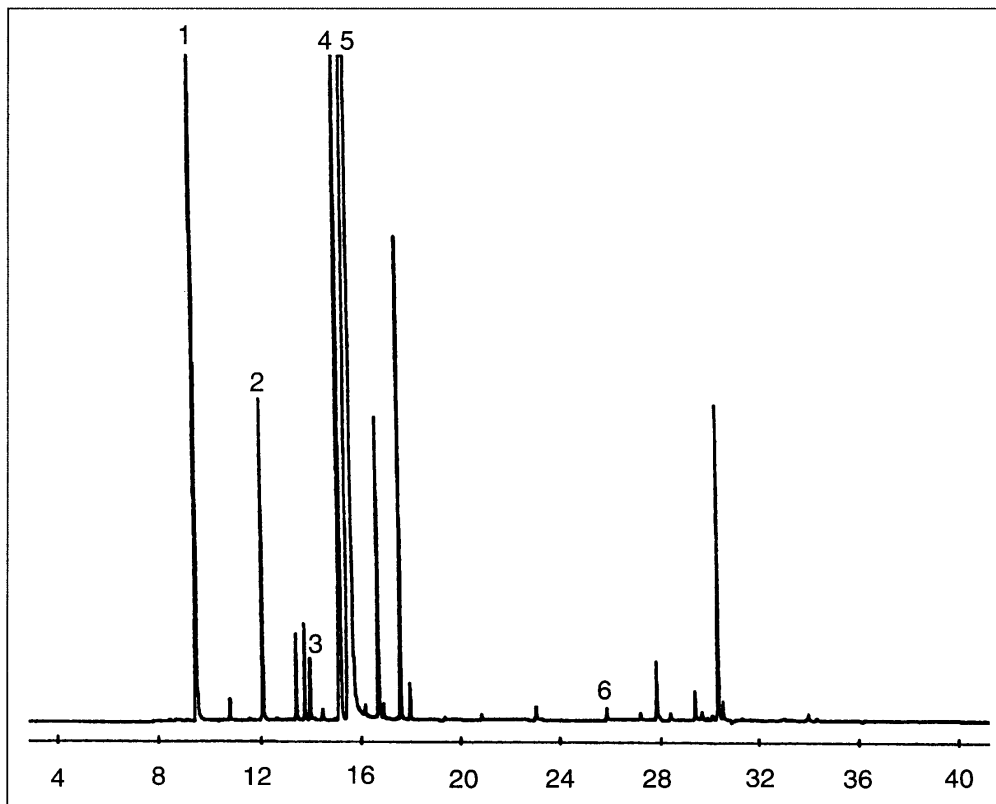
Obsah látek v procentech se pohybuje v rozmezí:

α-pinen:	2 % až 8 %,
β-pinen:	méně než 0,5 %,
α-felandren:	méně než 1,5 %,
limonen:	4 % až 12 %,
cineol:	nejméně 70 %,
kafr:	méně než 0,1 %.

## Uchovávání

Ve zcela naplněných, vzduchotěsných obalech, chráněna před teplem.

*Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.*



**Obr. 1** Vzorový chromatogram blahovičnickové silice pro zkoušku chromatografický profil.  
1 =  $\alpha$ -pinen, 2 =  $\beta$ -pinen, 3 =  $\alpha$ -felandren, 4 = limonen, 5 = cineol, 6 = kafr.

84. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Fenticonazoli nitras doplňuje článek Ferri chloridum hexahydricum, který zní:

”

## Ferri chloridum hexahydricum

Hexahydrát chloridu železitého



$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  270,30

CAS 10025-77-1

Obsahuje 98,0 % až 102,0 %  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

### Vlastnosti

Krystalická látka nebo oranžovožluté až hnědožluté velmi hygroskopické krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%, snadno rozpustný v glycerolu.

### Zkoušky totožnosti

- A. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).
- B. Vyhovuje zkoušce (c) na železo (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 10 g se rozpustí ve vodě destilované R a zředí se jí na 100 ml.

**Kyselce reagující látky.** Ve vhodné polyethylenové nádobě se rozpustí 3,0 g fluoridu draselného R v 15 ml vody R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za použití 0,1 ml fenolftaleinu RS jako indikátoru do vzniku růžového zbarvení. Přidá se 10 ml roztoku S a nechá se 3 h stát, zfiltruje se a použije se 12,5 ml filtrátu. Ke změně zbarvení indikátoru na růžové se spotřebuje nejvýše 0,30 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS.

**Volný chlor.** 5 ml roztoku S se zahřívá; papír škrobový s jodidem draselným R se účinkem par nezbarví modře.

**Sírany (2.4.13).** 15 ml roztoku S se zahřívá na vodní lázni a přidá se 5 ml hydroxidu sodného koncentrovaného RS. Nechá se ochladit a zfiltruje se. Filtrát se neutralizuje kyselinou chlorovodíkovou RS na papír lakmusový modrý R a odpaří se na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100 µg/g).

**Železo ( $\text{Fe}^{2+}$ ).** K 10 ml roztoku S se přidá 1 ml vody R, 4 ml kyseliny fosforečné R a 0,05 ml hexakvanoželezitanu draselného RS. Po 10 min není modré zbarvení roztoku intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 10 ml vody R a 1 ml čerstvě připraveného roztoku síranu železnatého R (0,250 g/l) (50 µg Fe/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g se rozpustí v 10 ml kyseliny chlorovodíkové RS. Přidají se 2 ml peroxidu vodíku koncentrovaného R a odpaří se na 5 ml. Nechá se ochladit a zředí se kyselinou chlorovodíkovou RS na 20 ml a roztok se převede do dělicí nálevky. Třepe se třikrát 3 min vždy s 20 ml isobutylmethylketonu RI. Spodní vrstva se oddělí a odpaří se na polovinu svého objemu a zředí se vodou R na 25 ml. 10 ml tohoto roztoku se neutralizuje amoniakem zředěným RS1 na papír lakmusový červený R a zředí se vodou R na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (50 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

### Stanovení obsahu

0,200 g v kónické baňce se zabroušenou zátkou se rozpustí ve 20 ml vody R, přidá se 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 2 g jodidu draselného R. Baňka se uzavře a nechá se 1 h stát chráněna před světlem. Titruje se thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS za použití 5 ml škrobu RS jako indikátoru přidaného před koncem titrace.

1 ml thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 27,03 mg  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

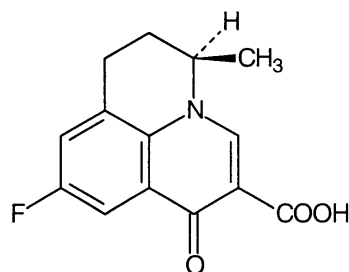
“

85. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Flumazenilum doplňuje článek Flumequinum, který zní:

”

## † Flumequinum

Flumechin



a enantiomer

$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{FNO}_3$

$M_r$  261,25

CAS 42835-25-6

Je to kyselina (RS)-9-fluor-5-methyl-1-oxo-6,7-dihydro-1H,5H-benzo[i,j]chinolizin-2-karboxylová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{FNO}_3$ .

### Vlastnosti

Bílý mikrokrytalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů, mírně rozpustný v dichlormethanu a velmi těžce rozpustný v methanolu.

### 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 odpovídá spektru flumechinu CRL.

**B.** Zkouška Optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

**C.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 5 mg se rozpustí v 10 ml dichlormethanu R.

*Porovnávací roztok.* 5 mg flumechinu CRL se rozpustí v 10 ml dichlormethanu R.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 17,5% RS, vody R a lihu 96% R (10 + 10 + 90) 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.

**D.** 5 mg se smísí s 45 mg oxidu hořečnatého těžkého R a žihá se v kelímku do vzniku téměř bílého zbytku (obvykle méně než 5 min). Potom se ochladí, přidá se 1 ml vody R, 0,05 ml fenolftaleinu RS1 a asi 2 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS do vzniku bezbarvého roztoku. Zfiltruje se a k filtrátu se přidá čerstvě připravená směs 0,1 ml alizarinu S RS a 0,1 ml dusičnan-oxidu zirkoničitého RS. Promíchá se, nechá se 5 min stát a potom se porovná zbarvení roztoku s kontrolním roztokem připraveným za stejných podmínek. Zbarvení zkoušeného roztoku se mění z červeného na žluté, zbarvení kontrolního roztoku zůstává červené.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 5,00 g se rozpustí v hydroxidu sodném 0,5 mol/l RS a zředí se jím na 50,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>5</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Optická otáčivost** (2.2.7).  $-0,10^\circ$  až  $+0,10^\circ$ ; měří se úhel optické otáčivosti roztoku S.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 35,0 mg se rozpustí v dimethylformamidu R a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 5,0 mg flumechinu CRL a 5,0 mg flumechinu nečistoty B CRL se rozpustí v dimethylformamidu R a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí dimethylformamidem R na 200,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů methanolu R a roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného R (1,36 g/l) (49 + 51), s průtokovou rychlostí 0,8 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 313 nm,
- injektorové smyčky, 10  $\mu$ l.

Nastříkne se porovnávací roztok (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: flumechinu nečistoty B asi 11 min a flumechinu asi 13 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky flumechinu a flumechinu nečistoty B je nejméně 2,0.

Nastříkne se odděleně dimethylformamid R jako kontrolní roztok, zkoušený roztok a porovnávací roztok (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času flumechinu. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je relativní retenční čas flumechinu nečistoty A asi 0,67, vztaženo k píku flumechinu. 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 žádnému píku získanému s dimethylformamidem a k žádnému píku, jehož plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Těžké kovy** (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10  $\mu$ 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 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.

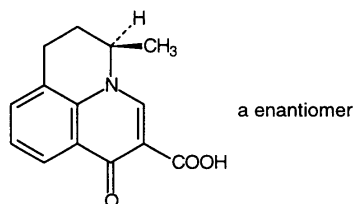
**Stanovení obsahu**

0,500 g se rozpustí v 50 ml *dimethylformamidu R* a titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

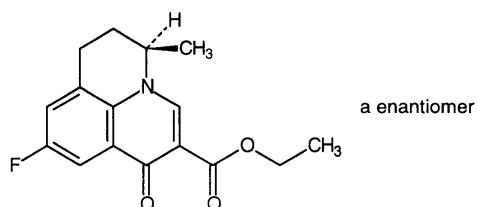
1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 26,13 mg  $C_{14}H_{12}FNO_3$ .

**Uchovávání**

Separandum.

**Nečistoty**

A. kyselina (*RS*)-5-methyl-1-oxo-6,7-dihydro-1*H*,5*H*-benzo[*i,j*]chinolizin-2-karboxylová (defluorflumechin),



B. ethyl-(*RS*)-9-fluor-5-methyl-1-oxo-6,7-dihydro-1*H*,5*H*-benzo[*i,j*]chinolizin-2-karboxylát<sup>1)</sup> (ethylester flumechinu).

66

<sup>1)</sup> ethyl-(*RS*)-9-fluor-5-methyl-1-oxo-6,7-dihydro-1*H*,5*H*-benzo[*i,j*]chinolizin-2-karboxylát

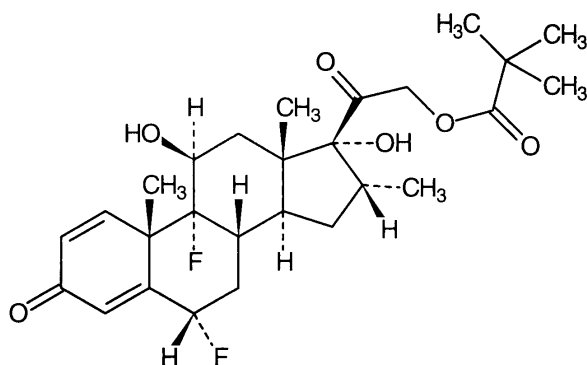


86. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Flumetasoni pivalas zní:

”

## † Flumetasoni pivalas

Flumetasonpivalat



$C_{27}H_{36}F_2O_6$

$M_r$  494,57

CAS 2002-29-1

Je to 6 $\alpha$ ,9-difluor-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl-2,2-dimethylpropanoat<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny  $C_{27}H_{36}F_2O_6$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

Vyazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz. *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *flumetasonpivalatu CRL*. Pokud spektra získaná se vzorky v pevném stavu jsou rozdílná, rozpustí se odděleně zkoušená i referenční látka v *acetonu R*, odpaří se na vodní lázni do sucha a se získanými zbytky se zaznamenají nová spektra.

**B.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> R*.

*Zkoušený roztok.* 10 mg se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg *flumetasonpivalatu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg *deoxykortonacetatu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (a) na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku. Vytvoří se mobilní fázi připravenou přidáním směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (1,2 + 8) ke směsi objemových dílů *etheru R* a *dichlormethanu R* (15 + 77) po

<sup>1)</sup> 6 $\alpha$ ,9-difluor-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl-2,2-dimethylpropanoát

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 líhu RS* a zahřívá se 10 min při 120 °C nebo do objevení skvrn. Po vychladnutí se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a zbarvením při denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

- C. Asi 2 mg se přidají ke 2 ml směsi objemových dílů *vody R* a *kyseliny sírové R* (0,5 + 1,5) a třepe se do rozpuštění. Během 5 min vznikne růžové zbarvení. Roztok se přidá k 10 ml *vody R* a promíchá se. Zbarvení vybledne a roztok zůstane čirý.
- D. Asi 5 mg se smísí s 45 mg *oxidu hořečnatého těžkého R* a žihá se v kelímku do získání téměř bílého zbytku (obvykle méně než 5 min). Nechá se vychladnout, přidá se 1 ml *vody R*, 0,05 ml *fenolftaleinu RS1* a asi 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* do získání bezbarvého roztoku a zfiltruje se. K čerstvě připravené směsi 0,1 ml *alizarinu S RS* a 0,1 ml *dusičnanu-oxidu zirkoničitého RS* se přidá 1,0 ml filtrátu, promíchá se a nechá 5 min stát. Současně se stejným způsobem připraví kontrolní roztok a oba vzorky se porovnají. Zkoušený roztok je žlutý, kontrolní roztok je červený.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,50 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>6</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +69° až +77°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10 mg *dexamethasonpivalatu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku a 5,0 ml zkoušeného roztoku se smíchá a zředí mobilní fází na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 2,0 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 pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *tetrahydrofuranu R*, *acetonitrilu R*, *vody R* a *methanolu R* (5 + 30 + 30 + 35), s průtokovou rychlostí 0,6 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je relativní retenční čas *dexamethasonpivalatu* vzhledem k *flumetasonpivalatu* asi 1,1. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píky *dexamethasonpivalatu* a *flumetasonpivalatu* nejméně 2,8. Je-li třeba, upraví se koncentrace *tetrahydrofuranu* v mobilní fázi.

Nastříkne se 20 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 0,75násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %). Nepřihlíží se k pikům 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 v sušárně 4 h při 100 °C až 105 °C.

## Stanovení obsahu

50,0 mg se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 239 nm.

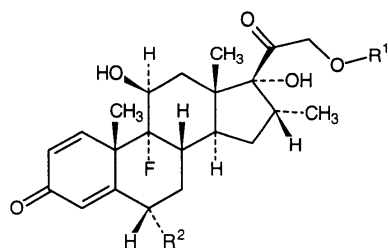
Obsah  $C_{27}H_{36}F_2O_6$  se vypočítá za použití specifické absorbance, která má hodnotu 336.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.

## Nečistoty



- A.  $R^1 = H$ ,  $R^2 = F$ : 6 $\alpha$ ,9-difluor-11 $\beta$ ,17,21-trihydroxy-16 $\alpha$ -methylpregna-1,4-dien-3,20-dion (flumetason),
- B.  $R^1 = CO-CH_3$ ,  $R^2 = F$ : 6 $\alpha$ ,9-difluor-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-ylacetat<sup>2)</sup> (flumetasonacetat)<sup>3)</sup>,
- C.  $R^1 = CO-C(CH_3)_3$ ,  $R^2 = H$ : 9-fluor-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl-2,2-dimethylpropanoat<sup>4)</sup> (dexametasonpivalat)<sup>5)</sup>,
- D.  $R^1 = CO-C(CH_3)_3$ ,  $R^2 = Cl$ : 6 $\alpha$ -chlor-9-fluor-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl-2,2-dimethylpropanoat<sup>6)</sup> (chlordexametasonpivalat)<sup>7)</sup>.

“

<sup>2)</sup> 6 $\alpha$ ,9-difluor-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl-acetát

<sup>3)</sup> flumetason-acetát

<sup>4)</sup> 9-fluor-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl-2,2-dimethylpropanoát

<sup>5)</sup> dexametason-pivalát

<sup>6)</sup> 6 $\alpha$ -chlor-9-fluor-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl-2,2-dimethylpropanoát

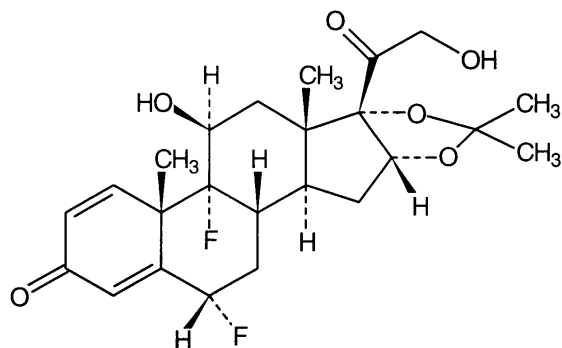
<sup>7)</sup> chlordexametason-pivalát

87. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Fluocinoloni acetonidum zní:

”

## † Fluocinoloni acetonidum

Fluocinolonacetonid



$C_{24}H_{30}F_2O_6$

$M_r$  452,49

CAS 67-73-2

Je to 6 $\alpha$ ,9-difluor-11 $\beta$ ,21-dihydroxy-16 $\alpha$ ,17-(isopropylidendioxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny  $C_{24}H_{30}F_2O_6$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu a v ethanolu.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *fluocinolonacetonidu* CRL.
- B. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné látky. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) přibližně odpovídá retenčnímu času píku *fluocinolonacetonidu* CRL na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

### Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +92° až +96°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,100 g v *dioxanu* R a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkouška se provede za chránění před světlem.*

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí v *acetonitrilu* R a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 2,5 mg *fluocinolonacetonidu* CRL a 2,5 mg *triamcinolonacetonidu* R se rozpustí v *acetonitrilu* R a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *acetonitrilem* R na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii bazických látek R* (5 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min, která se připraví takto: v 1000ml odměrné baňce se smíchá 450 ml *acetonitrilu R* s 500 ml *vody R*, nechá se ustálit, doplní se *vodou R* na 1000 ml a opět se promíchá,
- spektrofotometrického detektoru, 238 nm.

Kolona se ustaluje asi 30 min mobilní fází s průtokovou rychlostí 1 ml/min.

Citlivost systému se nastaví 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: triamcinolonacetonidu asi 8,5 min a flucinolonacetonidu asi 10 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky triamcinolonacetonidu a flucinolonacetonidu je nejméně 3,0. Pokud je to nutné, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi.

Nastříkne se odděleně 20 μl *acetonitrilu R* jako kontrolní roztok, 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %) a nejvýše jeden pík má plochu větší než je polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); 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 kontrolního roztoku a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

## Stanovení obsahu

*Zkouška se provede za chránění před světlem.*

50,0 mg se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 50,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml.

Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 238 nm.

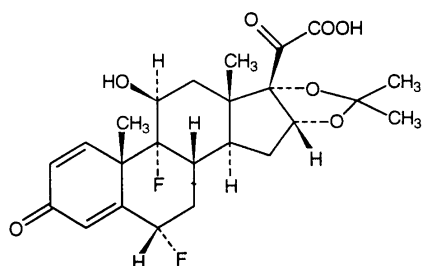
Vypočítá se obsah  $C_{24}H_{30}F_2O_6$  za použití specifické absorbance, která má hodnotu 355.

## Uchovávání

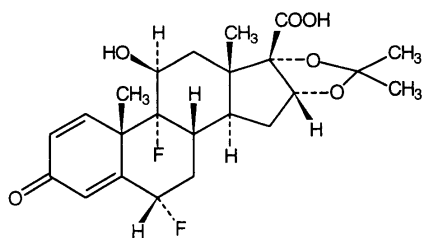
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

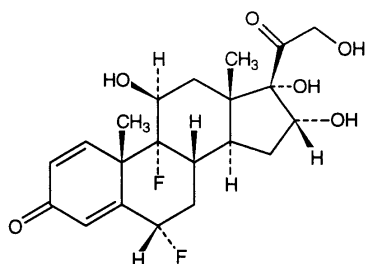
## Nečistoty



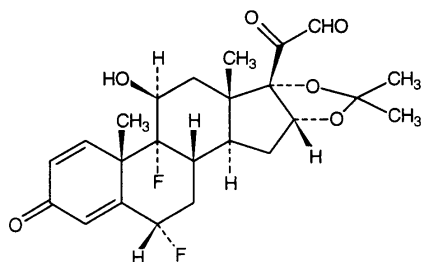
A. kyselina 6α,9-difluor-11β-hydroxy-16α,17-(isopropylidendioxy)-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-ová,



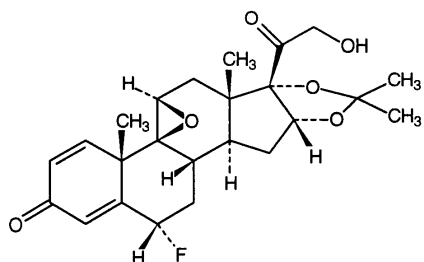
B. kyselina 6 $\alpha$ ,9-difluor-11 $\beta$ -hydroxy-16 $\alpha$ ,17-(isopropylidendioxy)-3-oxoandrosta-1,4-dien-17 $\beta$ -karboxylová,



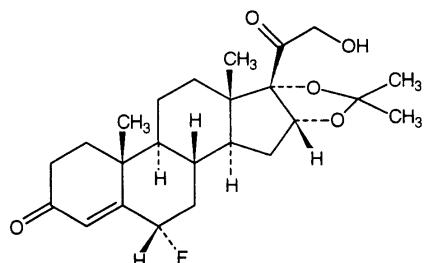
C. 6 $\alpha$ ,9-difluor-11 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion,



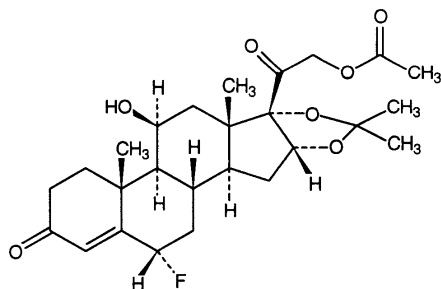
D. 6 $\alpha$ ,9-difluor-11 $\beta$ -hydroxy-16 $\alpha$ ,17-(isopropylidendioxy)-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-al,



E. 9 $\beta$ ,11 $\beta$ -epoxy-6 $\alpha$ -fluor-21-hydroxy-16 $\alpha$ ,17-(isopropylidendioxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion,



F. 6 $\alpha$ -fluor-21-hydroxy-16 $\alpha$ ,17-(isopropylidendioxy)pregn-4-en-3,20-dion,



G. 6 $\alpha$ -fluor-11 $\beta$ -hydroxy-16 $\alpha$ ,17-(isopropylidendioxy)-3,20-dioxopregn-4-en-21-ylacetat<sup>1)</sup>.

“

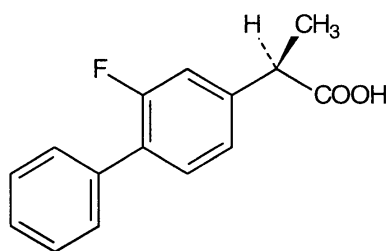
88. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Flurazepam hydrochloridum doplňuje článek Flurbiprofenum, který zní:

”

## † Flurbiprofenum

Flurbiprofen

2001



a enantiomer

$C_{15}H_{13}FO_2$

$M_r$  244,26

CAS 5104-49-4

Je to kyselina (*RS*)-2-(2-fluorbifenyl-4-yl)propanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{15}H_{13}FO_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu. Rozpouští se ve vodných roztocích alkalických hydroxidů a uhličitánů.

<sup>1)</sup> 6 $\alpha$ -fluor-11 $\beta$ -hydroxy-16 $\alpha$ ,17-(isopropylidendioxy)-3,20-dioxopregn-4-en-21-yl-acetát

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 114 °C až 117 °C.

B. 0,10 g se rozpustí v *hydroxidu sodném 0,1 mol/l RS* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *hydroxidem sodným 0,1 mol/l RS* na 100,0 ml a měří se absorbance (2.2.25) při 230 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 247 nm. Specifická absorbance v maximum je 780 až 820.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *flurbiprofenu CRL*.

D. Asi 5 mg se smíchá s 45 mg *oxidu hořečnatého těžkého R* a žihá se v kelímku do téměř bílého zbytku (obvykle méně než 5 min). Nechá se vychladnout, přidá se 1 ml *vody R*, 0,05 ml *fenolftaleinu RS1* a asi 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, aby vznikl bezbarvý roztok. Zfiltruje se, 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 5 min stát a zbarvení roztoku se porovná se zbarvením kontrolního roztoku připraveného stejným způsobem. Zkoušený roztok je žlutý a kontrolní roztok je červený.

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 1,0 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda I*).

**Optická otáčivost** (2.2.7).  $-0,1^{\circ}$  až  $+0,1^{\circ}$ ; měří se úhel optické otáčivosti roztoku připraveného rozpuštěním 0,50 g v *methanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 20,0 ml.

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 0,20 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (45 + 55) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (45 + 55) na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10,0 mg *flurbiprofenu nečistoty A CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (45 + 55) a zředí se touto směsí na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 10 mg zkoušené látky se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (45 + 55) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (b) na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (5 + 35 + 60), průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c). Nastaví se citlivost systému tak, aby výšky dvou hlavních píků na získaném chromatogramu nebyly menší než 40 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem *flurbiprofenu nečistoty A* a píkem *flurbiprofenu* je nejméně 1,5.

Nastříkne se po 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku, porovnávacího roztoku (a) a porovnávacího roztoku (b) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *flurbiprofenu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku *flurbiprofenu nečistoty A* není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku *flurbiprofenu nečistoty A*, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %) a součet ploch takových píků není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,0 %). Nepřehlídí se k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,02 %).

**Těžké kovy** (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (10 + 90) a zředí se stejnou směsí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (10  $\mu$ g/g). Připraví se porovnávací roztok (1  $\mu$ g *Pb/ml*) zředěním základního roztoku *olova* (100  $\mu$ g *Pb/ml*) směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (10 + 90).



**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně 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 v platinovém kelímku.

### Stanovení obsahu

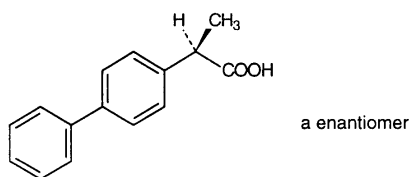
0,200 g se rozpustí v 50 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 24,43 mg  $C_{15}H_{13}FO_2$ .

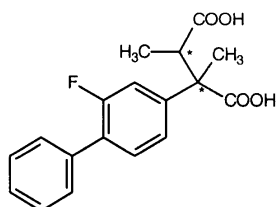
### Uchovávání

Separandum.

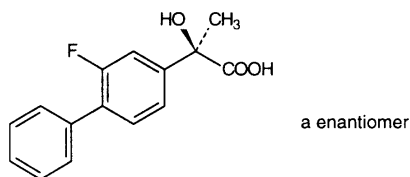
### Nečistoty



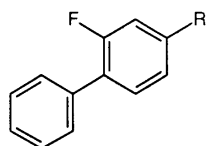
A. kyselina (*RS*)-2-(bifenyl-4-yl)propanová,



B. kyselina 2-(2-(2-fluorbifenyl-4-yl)-2,3-dimethylbutandiová,



C. kyselina (*RS*)-2-(2-(2-fluorbifenyl-4-yl)-2-hydroxypropanová,



D. R = CO-CH<sub>3</sub>: 1-(2-(2-fluorbifenyl-4-yl)ethanon<sup>1)</sup>,

E. R = COOH: kyselina 2-(2-fluorbifenyl-4-yl)karboxylová.

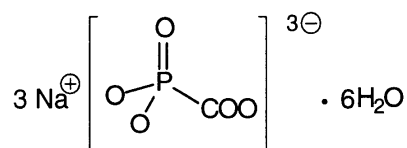
<sup>1)</sup> 1-(2-(2-fluorbifenyl-4-yl)ethan-1-on

89. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Formaldehydi solutio 35% doplňuje článek Foscarnetum natricum hexahydricum, který zní:

”

## Foscarnetum natricum hexahydricum

Hexahydrát sodné soli foscarnetu



CNa<sub>3</sub>O<sub>5</sub>P · 6H<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 300,04

CAS 34156-56-4

Je to hexahydrát trinatrium-fosfonatoformiatu<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny CNa<sub>3</sub>O<sub>5</sub>P.

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *hexahydrátu sodné soli foscarnetu CRL*.  
 B. Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,5 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25 ml.

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

**Hodnota pH** (2.2.3). 9,0 až 11,0; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 25 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5,0 mg *foscarnetu nečistoty B CRL* se rozpustí v mobilní fázi, přidají se 2,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 50,0 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 μm),
- mobilní fáze, která se připraví takto: 3,22 g *síranu sodného dekahydrátu R* se rozpustí ve vodě R, přidají se 3 ml *kyseliny octové ledové R*, 6 ml roztoku *difosforečnanu sodného R* (44,61 g/l) a zředí se vodou R na 1000 ml

<sup>1)</sup> hexahydrát trinatrium-fosfonatoformiatu

(roztok A); 3,22 g *síranu sodného dekahydrátu R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 6,8 g *octanu sodného R* a 6 ml roztoku *difosforečnanu sodného R* (44,61 g/l) a zředí se *vodou R* na 1000 ml (roztok B). Smíchá se asi 700 ml roztoku A a asi 300 ml roztoku B tak, aby získaný roztok měl hodnotu pH 4,4. K 1000 ml tohoto roztoku se přidá 0,25 g *tetrahexylamoniumhydrogensulfátu R* a 100 ml *methanolu R*. Průtoková rychlost je 1,0 ml/min, - spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času foskarnetu. Zkoušku lze hodnotit, pokud rozlišení mezi píkem foskarnetu a píkem foskarnetu nečistoty B je nejméně 7.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ 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) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,4 %). Nepřehlídí se k píkům s relativním retenčním časem menším než 0,6 a k píkům s plochou menší než 0,2násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Nečistota D.** Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

*Zkoušený roztok.* 0,25 g se rozpustí v 9,0 ml *kyseliny octové 0,1 mol/l RS* za použití magnetického míchadla. Přidá se 1,0 ml *ethanolu R* a zamíchá se.

*Porovnávací roztok.* 25 mg *triethylfosfonoformiatu R* se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 25 m a vnitřního průměru 0,31 mm s vnitřní stěnou pokrytou 0,5  $\mu$ m filmem *poly(difenyl)(dimethyl)(divinyl)siloxanu R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu,
- plamenoionizačního detektoru,
- injektoru s děličem 1 : 20.

Teplota kolony vzrůstá ze 100 °C na 180 °C rychlostí 10 °C/min, teplota vstřikovacího prostoru se udržuje na 200 °C a teplota detektoru na 250 °C.

Nastříkne se po 3  $\mu$ l každého roztoku.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku nečistoty D větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,1 %).

**Fosforečnany a fosforitany.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 60,0 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 28 mg *dihydrogenfosforečnanu sodného monohydrátu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 43 mg *hydrogenfosforitanu sodného pentahydrátu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) a 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *vodou R* na 25 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 3 ml porovnávacího roztoku (a) a 3 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *vodou R* na 25 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,05 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *anexem R*,
- mobilní fáze, která se připraví takto: 0,102 g *hydrogenftalanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 2,5 ml *kyseliny dusičné 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000 ml. Průtoková rychlost je 1,4 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 290 nm (nepřímá detekce).

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (d). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky fosforečnanu (první pík) a fosforitanu je nejméně 2,0; hlavní pík má poměr signálu k šumu nejméně 10.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plochy píků fosforečnanu a fosforitanu nejsou větší než plochy odpovídajících píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,3 % fosforečnanu a 0,3 % fosforitanu).

**Těžké kovy.** 1,25 g se rozpustí ve 12,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS*. Zahřívá se 3 min na vodní lázni, nechá se ochladit na pokojovou teplotu a přenesení se do kádinky, pH se upraví na hodnotu asi 3,5 *amoniakem zředěným RS1* a zředí se *vodou R* na 25 ml (roztok A). K 12 ml roztoku A se přidá 2,0 ml *tlumivého roztoku o pH 3,5*. Směs se rychle přelije do zkumavky obsahující jednu kapku *sulfidu sodného RS*. Roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací roztok připravený současně stejným způsobem nalitím směsi 5,0 ml základního roztoku *olova (1  $\mu$ g Pb/ml)*, 5,0 ml *vody R*, 2,0 ml roztoku A a 2,0 ml *tlumivého roztoku o pH 3,5* do zkumavky obsahující jednu kapku *sulfidu sodného RS (10  $\mu$ g/g)*.

**Ztráta sušením** (2.2.32). 35,0 % až 37,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 150 °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, obsahuje nejvýše 83,3 m.j. endotoxinu na gram.

### Stanovení obsahu

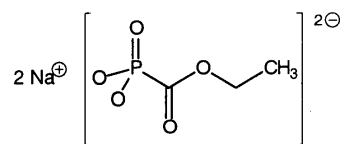
0,200 g se rozpustí v 50 ml vody R. Titruje se kyselinou sírovou 0,05 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) do prvního inflexního bodu.

1 ml kyseliny sírové 0,05 mol/l VS odpovídá 19,20 mg  $\text{CNa}_3\text{O}_5\text{P}$ .

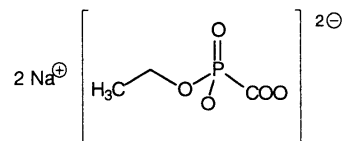
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

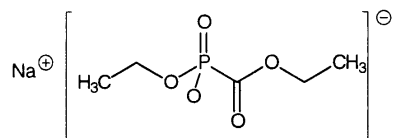
### Nečistoty



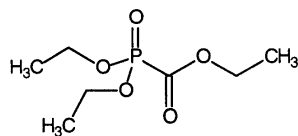
A. dinatrium-(ethoxykarbonyl)fosfonat<sup>2)</sup>,



B. dinatrium-(ethoxyoxidofosforyl)formiat<sup>3)</sup>,



C. natrium-ethyl-(ethoxykarbonyl)fosfonat<sup>4)</sup>,



D. ethyl-(diethoxyfosforyl)formiat<sup>5)</sup>.

“

<sup>2)</sup> dinatrium-(ethoxykarbonyl)fosfonát

<sup>3)</sup> dinatrium-(ethoxyoxidofosforyl)formiát

<sup>4)</sup> natrium-ethyl-(ethoxykarbonyl)fosfonát

<sup>5)</sup> ethyl-(diethoxyfosforyl)formiát

90. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Gelatina zní:

”

## Gelatina

Želatina



2001

Je to čištěná bílkovina získaná z živočišného kolagenu buď částečnou kyselou hydrolyzou (typ A), nebo částečnou alkalickou hydrolyzou (typ B); může to být i směs obou typů. Látka popsaná v tomto článku není zcela vhodná k přípravě parenterálních lékových forem nebo pro jiné zvláštní účely.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje požadavkům článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

### Vlastnosti

Nažloutlá až světle žlutavě hnědá pevná látka, bez chuti, obvykle ve formě průsvitných lístků, útržků, zrn nebo prášku. Je prakticky nerozpustná v běžných organických rozpouštědlech; ve studené vodě bobtná a po zahřátí tvoří koloidní roztok, který po ochlazení přechází ve více nebo méně pevný gel. Izoelektrický bod želatiny typu A je mezi pH 6,3 a 9,2, želatiny typu B mezi pH 4,7 a 5,2.

### Zkoušky totožnosti

- A. 2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se smíchají s 0,05 ml *síranu měďnatého RS* a přidá se 0,5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*; vznikne fialové zbarvení.
- B. 0,5 g zkoušené látky se ve zkumavce smíchá s 10 ml *vody R*. Nechá se stát 10 min, pak se zahřívá 15 min při 60 °C a zkumavka se nechá stát 6 h při 0 °C v kolmé poloze. Při otočení zkumavky obsah okamžitě nevyteče.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* při teplotě asi 55 °C a zředí se stejným rozpouštědlem na 100 ml. Roztok se uchovává při této teplotě k dalším zkouškám.

**Vzhled roztoku.** Roztok S není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>4</sub> (2.2.2, *Metoda II*). Roztok S připravený ze želatiny typu A nebo typu B neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze IV (2.2.1). Směsi želatiny typu A a typu B mohou tvořit opalizující roztoky, jejichž opalescence je vyvolána tvorbou koacervátů, v širokém rozmezí hodnot pH v závislosti na koncentraci.

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,8 až 7,6; měří se roztok S.

**Fenolické konzervační látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

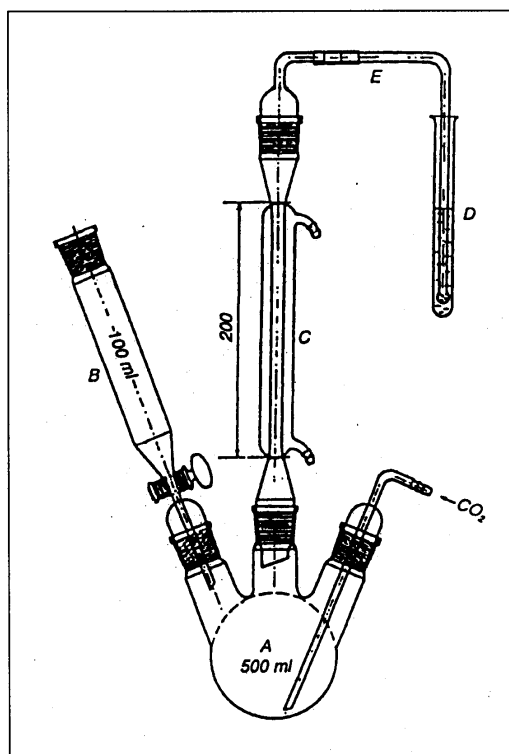
**Zkoušený roztok.** 1,0 g se smíchá s 20 ml *methanolu R* a 2 ml *amoniaku 17,5% RS* a nechá se 20 h stát. Pak se čirý roztok slije, odpaří se do sucha a zbytek se rozpustí v 0,5 ml *methanolu R*.

**Porovnávací roztok (a).** 2 mg *ethylparabenu R* nebo *methylparabenu R* nebo *propylparabenu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 2 mg *benzokainu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1 mg *ethylparabenu R*, 1 mg *methylparabenu R*, 1 mg *propylparabenu R* a 2 mg *benzokainu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů (20 mm × 3 mm) po 10 μl každého roztoku. Na nanesený a vysušený pruh zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (b) se nanese ještě 10 μl roztoku *dimethylaminonaftalensulfonylchloridu R* (1 g/l) v *acetonu R*. Odděleně se nanese do pruhu (20 mm × 3 mm) 10 μl roztoku *dimethylaminonaftalensulfonylchloridu R* (1 g/l) v *acetonu R* a 10 μl zkoušeného roztoku (nederivatizovaného). Nanesené pruhy se postříkají v téměř vodorovné poloze roztokem *tetraboritanu sodného R* (50 g/l) a vrstva se suší 15 min při 60 °C. Chromatografie se provádí za ochrany před světlem. Využívají se směsi objemových dílů *ethanolu R* a *toluenu R* (8 + 92) po dráze 12 cm. Vysuší se na vzduchu a pozoruje se ihned v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je červeně fluoreskující skvrna s hodnotou  $R_F$  asi 0,5 (dimethylaminonaftalensulfonylový derivát benzokainu) a skvrny dimethylaminonaftalensulfonylchloridu. Na chromatogramu roztoku dimethylaminonaftalensulfonylchloridu jsou modře fluoreskující skvrny na startu a v blízkosti čela chromatogramu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku nejsou, kromě skvrn na startu a skvrn dimethylaminonaftalensulfonylchloridu, žádné skvrny s intenzivnější fluorescencí než skvrny odpovídající derivátům benzokainu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (např. aminokyselinové detergenty). Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou skvrny zhášející fluorescenci s hodnotou  $R_F$  0,3 až 0,5 (estery kyseliny 4-hydroxybenzoové). Na chromatogramu nederivatizovaného zkoušeného roztoku nejsou žádné skvrny zhášející fluorescenci intenzivnější než tyto skvrny na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (fenolické konzervační látky, např. estery kyseliny 4-hydroxybenzoové). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) pozorovaného v ultrafialovém světle při 254 nm jsou zřetelně oddělené skvrny benzokainu a esterů kyseliny 4-hydroxybenzoové.



**Obr.1** Přístroj pro stanovení oxidu siřičitého (Rozměry v milimetrech)

**Oxid siřičitý.** Nejvýše 200 μg/g. 150 ml *vody R* se převede do baňky (A) (viz obrázek 1) a celý systém se promývá 15 min *oxidem uhličitým R* při průtoku 100 ml/min. Do zkumavky (D) se převede 10 ml *peroxidu vodíku zředěného RS* zneutralizovaného na roztok *modři bromfenolové R* (1 g/l) v *lihu R* 20% (V/V). Bez přerušení průtoku oxidu uhličitého se odstraní nálevka (B) a do baňky se otvorem převede pomocí 100 ml *vody R* 25,0 g zkoušené látky. Nálevkou se přidá

80 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vaří se 1 h. Pak se otevře uzávěr nálevky, uzavře se přívod oxidu uhličitého, ukončí se zahřívání a chlazení vodou. Obsah zkumavky se převede pomocí malého množství *vody R* do kuželové baňky na 200 ml se širokým hrdlem, zahřívá se 15 min na vodní lázni a pak se ochladí. Přidá se 0,1 ml roztoku *modři bromfenolové R* (1 g/l) v *lihu R* 20% (V/V) a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do změny žlutého zbarvení na fialovomodré.

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

$$128a,$$

v němž značí:

*a* - spotřebu *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* v mililitrech.

**Peroxidy.** 1,0 g se rozpustí zahřátím v 10 ml *vody R* a smíchá se 2 ml *oxidu vanadičného v kyselině sírové RS*. Roztok není zbarven intenzivněji oranžově žlutě než porovnávací roztok připravený stejným způsobem za použití směsi 1 ml roztoku *peroxidu vodíku R* (0,1 g/l) a 9 ml *vody R* (100  $\mu\text{g H}_2\text{O}_2/\text{g}$ ).

**Mohutnost gelu.** Pokud je látka určena pro přípravu globulí, čípků a zinkové želatiny, mohutnost gelu je 150 g až 250 g.

Mohutnost gelu se vyjadřuje jako množství v gramech potřebné ke vzniku síly, která vtlačí píst o průměru 12,7 mm do gelu o koncentraci 6,67 % při 10 °C do hloubky 4 mm.

**Přístroj.** Popis gelometru:

- válcovitý píst o průměru (12,7  $\pm$  0,1) mm s rovnou dolní stranou a s okrouhlým okrajem o poloměru 0,5 mm,
- zařízení pro nastavení výšky baňky obsahující gel tak, aby se povrch pístu dotýkal hladiny gelu bez použití vnějšího tlaku,
- zařízení na vnější zatížení pístu s konstantní rychlostí 40 g/s,
- zařízení na svislý pohyb pístu, který může být přerušen v jedné čtyřicetině sekundy, při poklesu o (4  $\pm$  0,1) mm,
- měřicí zařízení (váhy) pro měření finálního zatížení s přesností na  $\pm$  0,5 g,
- baňka o vnitřním průměru (59  $\pm$  1) mm a výšce 85 mm.

**Postup.** 7,5 g zkoušené látky se v baňce smíchá se 105 ml *vody R*, hrdlo baňky se překryje hodinovým sklíčkem a nechá se 3 h stát. Pak se zahřívá 15 min ve vodní lázni při 65 °C. Během zahřívání se míchá obsah skleněnou tyčinkou tak, aby roztok byl homogenní a na vnitřních stěnách baňky se netvořily kapky vody. Ochladí se na pokojovou teplotu a po 15 min se baňka vloží do vodní lázně opatřené termostatem nastavitelným na (10  $\pm$  0,1) °C. Baňka se uzavře gumovou zátkou a nechá se stát 16 h až 18 h ve svislé poloze. Pak se ihned vloží do gelometru tak, že hladina gelu se dotýká pístu bez použití vnějšího tlaku. Zátěž pístu se zvýší rychlostí 40 g/s tak, aby píst poklesl o (4  $\pm$  0,1) mm. Vnější síla vyvinutá na píst v tomto okamžiku měřená v gramech vyjadřuje mohutnost gelu. Stanovení se provede nejméně třikrát, ze stanovení se vypočítá průměrná hodnota.

**Arsen (2.4.2).** K 1,0 g ve 100 ml baňce se přidá 15 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a za chlazení ve směsi vody s ledem se po kapkách přidává 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R* a 0,1 ml *chloridu železitého RSI*. Nechá se 30 min stát při pokojové teplotě a občas se jemně protřepe. Přidá se 1 ml *lihu 96% R* a vaří se 1 h pod zpětným chladičem, pak se ochladí a zředí se na 25 ml *vodou R*, kterou se předtím propláchl chladič. Z tohoto roztoku se připraví zkoušený roztok způsobem popsaným v Metodě A za použití 15 ml *vody R* místo 15 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Zkoušený roztok vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (1  $\mu\text{g/g}$ ). Porovnávací roztok se připraví stejným způsobem za použití *kyseliny chlorovodíkové R*, jak je uvedeno na začátku zkoušky.

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (50  $\mu\text{g/g}$ ). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 10 ml základního roztoku *olova* (10  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 15,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 2,0 %.

**Mikrobiální znečištění (2.6.12).** Nejvýše 10<sup>3</sup> živých mikroorganismů v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce (2.6.13) na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella*.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvede:a

- je-li látka vhodná pro přípravu globulí, čípků nebo zinkové želatiny a je-li tomu tak, ještě mohutnost gelu.

“

91. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Geranii etheroleum* doplňuje článek *Ginseng radix*, který zní:

”

## Ginseng radix

Ženšenový kořen

*Synonyma.* Radix ginseng, kořen všehoje ženšenového



2001

Je to usušený celý nebo řezaný kořen druhu *Panax ginseng* C. A. MEYER. Obsahuje nejméně 0,40 % směsi ginsenosidů Rg1 ( $C_{42}H_{72}O_{14} \cdot 2H_2O$ ;  $M_r$  837,05) a Rb1 ( $C_{54}H_{92}O_{23} \cdot 3H_2O$ ;  $M_r$  1163,35), vztaženo na vysušenou drogu.

### Popis a vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A. Hlavní kořen je větvenitý nebo válcovitý, někdy větvený, až 20 cm dlouhý a o průměru až 2,5 cm. Může být zkroucen či stočen nazpět. Povrch je světle žlutý až smetanově bílý, podélně vrásčitý. Kořenová hlava je zjizvená tak, že připomíná korunu. Lom je krátký. Na povrchu hladkého příčného řezu je patrna široká vnější vrstva s rozptýlenými oranžovočervenými pryskyřičnými kanálky a jemně paprscitá střední část. Ve spodní části kořene jsou četné jemné tenké kořínky.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je světle žlutý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: četné úlomky tenkostěnných parenchymatických buněk a velkých sekrečních kanálků obsahujících žlutohnědou pryskyřici. Někdy jsou přítomny nezdřevnatělé cévice a částečně zdřevnatělé šroubovitě nebo síťovitě ztlustlé cévy, vyskytující se jednotlivě nebo v malých skupinách a roztroušené drúzy šťavelanu vápenatého. Pozoruje se pod mikroskopem ve směsi stejných objemových dílů *glycerolu R* a *vody R*; jsou patrná četná jednoduchá, dvoučetná nebo trojčetná škrobová zrna o průměru 1  $\mu$ m až 10  $\mu$ m.
- 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 vaří 15 min pod zpětným chladičem s 10 ml roztoku *methanolu R* 70% (V/V). Po ochlazení se zfiltruje a filtrát se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 5,0 mg *escinu R* a 5,0 mg *arbutinu R* se rozpustí v 1 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 20  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se v nenasycené komoře horní vrstvou směsí 25 ml *ethylacetatu R*, 50 ml *vody R* a 100 ml *1-butanolu R* (horní vrstva se oddělí po 10 min stání) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS*, zahřívá se 5 min až 10 min při 105 °C až 110 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní třetině hnědá skvrna (arbutin) a v dolní třetině šedá skvrna (escin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v poloze vymezené dvěma skvrnami na chromatogramu porovnávacího roztoku o něco níže než skvrna arbutinu dvě fialovošedé skvrny: ginseno-



sid Rg1 (horní skvrna) a ginsenosid Re (dolní skvrna). Fialovošedá skvrna ginsenosidu Rb1 odpovídá polohou šedé skvrně escinu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Mezi skvrnami ginsenosidu Rb1 a Re jsou další méně intenzivní skvrny; skvrna nejbližší ke startu odpovídá ginsenosidu Rc. Další skvrny jsou v dolní třetině chromatogramu.

### Zkouška na čistotu

**Cizí příměsi** (2.8.2). Vyhovuje požadavkům zkoušky Cizí příměsi.

**Panax quinquefolium**. Hodnotí se chromatogram ze zkoušky Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je pík odpovídající ginsenosidu Rf; v případě záměny za *Panax quinquefolium* není pík odpovídající ginsenosidu Rf přítomen.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 10 %; 1,000 g práškované drogy (355) se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel** (2.4.16). Nejvýše 7 %.

**Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové** (2.8.1). Nejvýše 1,0 %.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok**. Upráškuje se asi 50 g drogy (355). 1,00 g práškované drogy se smíchá se 70 ml *methanolu R* 50% (V/V) ve 250ml baňce s kulatým dnem, přidá se několik zrněk pemzy a vaří se 1 h pod zpětným chladičem na vodní lázni. Po ochlazení se směs odstředí a supernatantní tekutina se odpaří za sníženého tlaku do sucha při teplotě nepřevyšující 60 °C. Ke zbytku se přidá 10 ml tlumivého roztoku obsahujícího 3,5 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* a 7,2 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* v 1000 ml *vody R* (roztok A).

Kolonka obsahující asi 360 mg vhodného *silikagelu oktadecylsilanizovaného pro chromatografii R* se promyje 5 ml *methanolu R* a pak 20 ml *vody R*. Nanese se 5 ml roztoku A a eluuje se 20 ml *vody R* a potom 15 ml roztoku *methanolu R* 30% (V/V). Tyto eluáty se odstraní. Následuje eluce 20 ml *methanolu R*; tento eluát se odpaří do sucha a zbytek po odpaření se rozpustí ve 2 ml *methanolu R*. Eluáty se odstraní, jestliže se neprokáže přítomnost žádných ginsenosidů, jinak se opakuje postup s kolonkou jiného výrobce.

**Porovnávací roztok**. 3,0 mg *ginsenosidu Rb1 R*, 3,0 mg *ginsenosidu Rg1 R* a 3,0 mg *ginsenosidu Rf R*, se přesně naváží, rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem aminopropylsilanizovaným pro chromatografii R*,
- mobilní fáze při průtokové rychlosti 2 ml/min:
  - mobilní fáze A - *acetonitril R*,
  - mobilní fáze B - *voda R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 14	90	10
14 - 18	90 → 80	10 → 20
18 - 55	80	20
55 - 60	90	10

- injektorová smyčka, 20 µl,
- spektrofotometrický detektor, 203 nm.

Nastříkne se porovnávací roztok. Citlivost detektoru se nastaví tak, aby výška píků ginsenosidů byla asi 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky ginsenosidu Rf a ginsenosidu Rg1 je nejméně 1,0.

Nastříkne se zkoušený roztok. Vypočítá se obsah ginsenosidu Rb1 a ginsenosidu Rg1 v procentech ze vztahu:

$$\frac{A_1 \cdot m_2 \cdot 40}{m_1 \cdot A_{Rb1}} + \frac{A_2 \cdot m_3 \cdot 40}{m_1 \cdot A_{Rg1}},$$

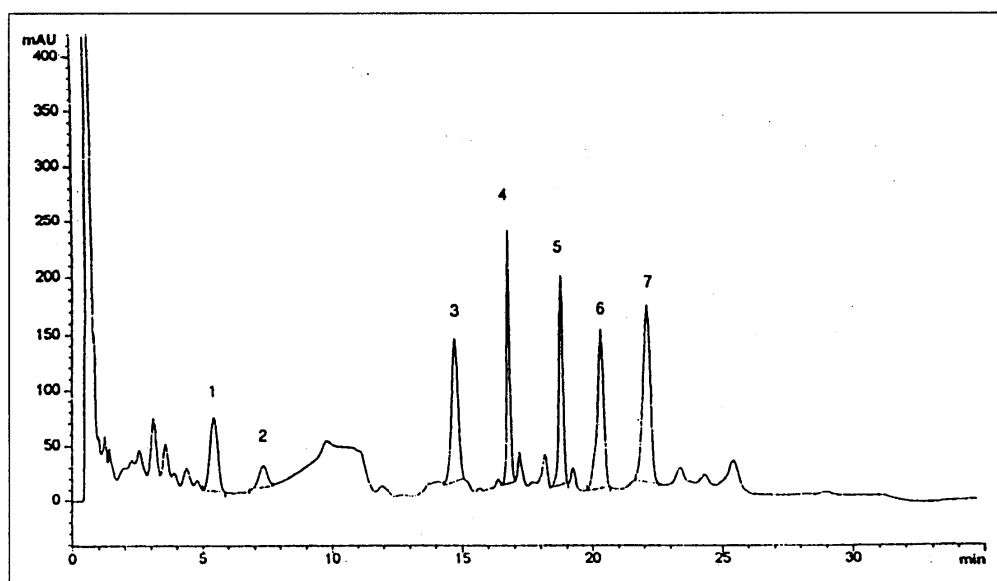
v němž značí:

- $A_1$  - plochu píku ginsenosidu Rb1 na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- $A_2$  - plochu píku ginsenosidu Rg1 na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- $A_{Rb1}$  - plocha píku ginsenosidu Rb1 na chromatogramu porovnávacího roztoku,
- $A_{Rg1}$  - plocha píku ginsenosidu Rg1 na chromatogramu porovnávacího roztoku,
- $m_1$  - hmotnost zkoušené drogy v gramech,
- $m_2$  - hmotnost ginsenosidu Rb1 v gramech,
- $m_3$  - hmotnost ginsenosidu Rg1 v gramech.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Následující vzorový chromatogram je uveden jen pro informaci, netvoří závaznou část článku.



**Obr. 1** Vzorový chromatogram zkoušeného roztoku.

1 = ginsenosid Rg1, 2 = ginsenosid Rf, 3 = ginsenosid Re, 4 = ginsenosid Rd, 5 = ginsenosid Rc, 6 = ginsenosid Rb2, 7 = ginsenosid Rb1

92. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Glibenclamidum doplňuje článek Gliclazidum, který zní:

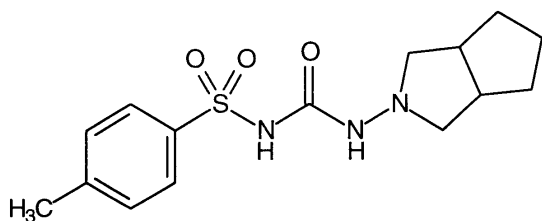
”

## † Gliclazidum

Gliklazid



2001

 $C_{15}H_{21}N_3O_3S$  $M_r$  323,41

CAS 21187-98-4

Je to 1-(hexahydro-1*H*-cyklopenta[*c*]pyrrol-2-yl)-3-tosylmočovina. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{15}H_{21}N_3O_3S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v acetonu a těžce rozpustný v lihu 96%.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *gliklazidu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Roztoky se připravují bezprostředně před použitím.*

*Zkoušený roztok.* 50,0 mg se rozpustí ve 23 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (45 + 55) na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5,0 mg zkoušené látky a 15 mg *gliklazidu nečistoty F CRL* se rozpustí ve 23 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 50 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (45 + 55) na 20 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 10,0 mg *gliklazidu nečistoty F CRL* se rozpustí ve 45 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (45 + 55) 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 oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *triethylaminu R*, *kyseliny trifluoroctové R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (0,1 + 0,1 + 45 + 55); průtoková rychlost je 0,9 ml/min,

- spektrofotometrického detektoru, 235 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška dvou hlavních píků na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi dvěma hlavními píky je nejméně 1,8.

Nastříkne se odděleně po 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku, porovnávacího roztoku (a) a porovnávacího roztoku (c). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času gliklazidu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku gliklazidu nečistoty F není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty F, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %); součet ploch všech takových píků není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Nečistota B.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) postupem popsaným ve zkoušce Příbuzné látky.

**Zkoušený roztok.** 0,400 g se rozpustí v 2,5 ml dimethylsulfoxidu R a zředí se vodou R na 10,0 ml. Míchá se 10 min, nechá se 30 min stát při 4 °C a zfiltruje se.

**Porovnávací roztok (a).** 20,0 mg gliklazidu nečistoty B CRL se rozpustí v dimethylsulfoxidu R a zředí se jím na 100,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 12 ml dimethylsulfoxidu R a zředí se vodou R na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** K 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 12 ml dimethylsulfoxidu R a zředí se vodou R na 50,0 ml.

Nastříkne se odděleně po 50  $\mu$ l zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího nečistotě B není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2  $\mu$ g/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,5 g vyhovuje limitní zkoušce F na těžké kovy (10  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1,5 ml základního roztoku olova (10  $\mu$ g Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,25 %; 1,000 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

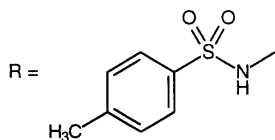
0,250 g se rozpustí v 50 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence.(2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 32,34 mg C<sub>15</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S.

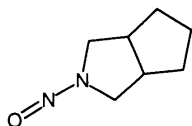
## Uchovávání

Separandum.

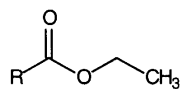
## Nečistoty



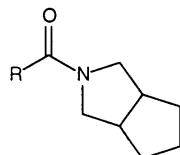
A. R-H : 4-methylbenzen-1-sulfonamid,



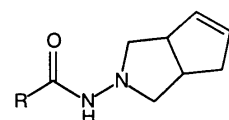
B. 2-nitrosohexahydro-1H-cyklopenta[c]pyrrol,



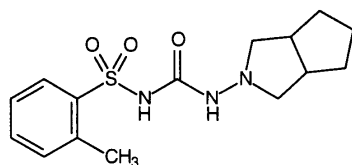
C. ethyl-*N*-tosylkarbamát<sup>1)</sup>,



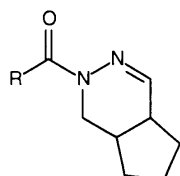
D. *N*-tosylhexahydro-1*H*-cyklopenta[*c*]pyrrol-2-karboxamid<sup>2)</sup>,



E. 1-(3,3a,4,6a-tetrahydro-1*H*-cyklopenta[*c*]pyrrol-2-yl)-3-tosylmočovina,



F. 1-(hexahydro-1*H*-cyklopenta[*c*]pyrrol-2-yl)-3-(2-methylbenzen-1-sulfonyl)močovina,



G. *N*-tosyl-1,2,4a,6,7,7a-hexahydro-5*H*-cyklopenta[*d*]pyridazin-2-karboxamid<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> ethyl-*N*-tosylkarbamát

<sup>2)</sup> *N*-tosylhexahydro-1*H*-cyklopenta[*c*]pyrrol-2-karboxamid

<sup>3)</sup> *N*-tosyl-1,2,4a,6,7,7a-hexahydro-5*H*-cyklopenta[*d*]pyridazin-2-karboxamid

93. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Glucosum liquidum* doplňuje článek *Glucosum liquidum dispersione desiccatum*, který zní:

”

## Glucosum liquidum dispersione desiccatum

Tekutá glukosa usušená rozprášením



2001

Je to směs glukosy, disacharidů a polysacharidů získaná částečnou hydrolyzou škrobu. Stupeň hydrolyzy vyjádřený jako glukosový ekvivalent (DE) není menší než 20 a neliší se o více než 10 % od hodnoty uvedené v označení na obalu.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý slabě hygroskopický prášek nebo granule. Je snadno rozpustná ve vodě.

### Zkoušky totožnosti

- A. 0,1 g se rozpustí ve 2,5 ml vody R a zahřívá se s 2,5 ml *vínanu měďnatého RS*; vzniká červená sraženina.
- B. Vhodná tyčinka s reakční vrstvou obsahující glukosooxidazu, peroxidazu a látku, která je donorem vodíku, např. tetramethylbenzidin, se ponoří na 1 s do roztoku zkoušené látky (5 g/l). Během následujících 60 s se pozoruje zbarvení reakční vrstvy; žluté zbarvení se změní na zelené nebo modré.
- C. Je to prášek nebo granule.
- D. Zkouška Glukosový ekvivalent, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 12,5 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 50,0 ml .

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,0 až 7,0; měří se směs obsahující 30 ml roztoku S a 1 ml roztoku *chloridu draselného R* (223,6 g/l).

**Oxid siřičitý** (2.5.29). Nejvýše 20 µg/g.

**Těžké kovy** (2.4.8). 4 ml roztoku S se zředí vodou R na 30 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce E na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml základního roztoku *olova* (1 µg Pb/ml ).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 6,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,5 %; stanoví se 1,00 g zkoušené látky.

**Glukosový ekvivalent.** Do 500ml odměrné baňky se přesně naváží takové množství zkoušené látky, které odpovídá 2,85 g až 3,15 g redukujících cukrů počítaných jako glukosa. Rozpustí se ve vodě R a zředí se jí na 500,0 ml. Roztok se převede do 50ml byrety.

Do 250ml baňky se odpipetuje 25,0 ml *vínanu měďnatého RS* a přidá se 18,5 ml roztoku z byrety, promíchá se a přidají se varné kaménky. Baňka se umístí na varnou desku, která je předem připravena tak, aby se směs začala vařit během 2 min ± 15 s. Nechá se vařit přesně 120 s, přidá se 1 ml roztoku *modři methylenové R* (1 g/l) a titruje se zkoušeným roztokem ( $V_1$ ) do vymizení modrého zbarvení. Během titrace se směs stále udržuje ve varu.

Roztok *vínanu měďnatého* se potom titruje standardním roztokem, který obsahuje přesně 6,00 g/l *glukosy R* ( $V_0$ ).

Glukosový ekvivalent (DE) se vypočítá ze vztahu:

$$DE = \frac{300 \cdot V_0 \cdot 100}{V_1 \cdot M \cdot D},$$

v němž značí:

$V_0$  - celkovou spotřebu standardního roztoku v mililitrech,

$V_1$  - celkovou spotřebu zkoušeného roztoku v mililitrech,

$M$  - navážku vzorku v gramech,

$D$  - obsah sušiny ve zkoušené látce v procentech.

**Mikrobiální znečištění.** Nejvýše  $10^3$  živých aerobních bakterií a  $10^2$  hub v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách (2.6.12). Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

### Označování

V označení na obalu se uvede hodnota glukosového ekvivalentu (DE).

“

94. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Glycinum a Gonadorelini acetat znějí:

”

---

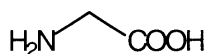
## Glycinum

Glycin

*Synonyma.* Acidum aminoaceticum, Glycocolum, kyselina aminoocetová



2001



$C_2H_5NO_2$

$M_r$  75,07

CAS 56-40-6

Je to kyselina 2-aminoethanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_2H_5NO_2$ .

### Výroba

Je-li vyráběn postupem zahrnujícím fermentační kroky, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *glycinu CRL*. Zkouší se tablety připravené za použití asi 1 mg zkoušené látky na 0,4 g *bromidu draselného R*. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v co nejmenším množství *líhu R 60% (V/V)*, odpaří se do sucha a zaznamenají se nová spektra.
- B.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.  
*Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.  
*Porovnávací roztok.* 25 mg *glycinu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.  
Na vrstvu se odděleně nanese po 2 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R* a *1-propanolu R* (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 10 min při 100 °C až 105 °C, potom se postříká roztokem *ninhhydrinu R* (2 g/l) ve směsí objemových dílů *kyseliny octové zředěné RS* a *1-butanolu R* (5 + 95) a 2 min se zahřívá při 100 °C až 105 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.
- C.** 50 mg se rozpustí v 5 ml *vody R*, přidá se 1 ml *chlornanu sodného RS* a 2 min se vaří. Pak se přidá 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a vaří se 4 min až 5 min. Dále se přidají 2 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 1 ml roztoku *resorcínolu R* (20 g/l), vaří se 1 min, ochladí se, přidá se 10 ml *vody R* a promíchá se. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 6 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*; roztok je fialový se zelenožlutou fluorescencí. Po několika minutách se barva mění na oranžovou a pak žlutou. Intenzivní fluorescence zůstává.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 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 *Ž<sub>7</sub>* (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,9 až 6,4; měří se 10 ml roztoku S zředěného *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 20 ml.

**Chloridy** (2.4.4). 0,67 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (75 µg/g).

**Těžké kovy** (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova* (1 µg *Pb/ml*).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 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

70,0 mg se rozpustí ve 3 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R* a přidá se 30 ml *kyseliny octové bezvodé R*. Ihned po rozpuštění se titruje *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

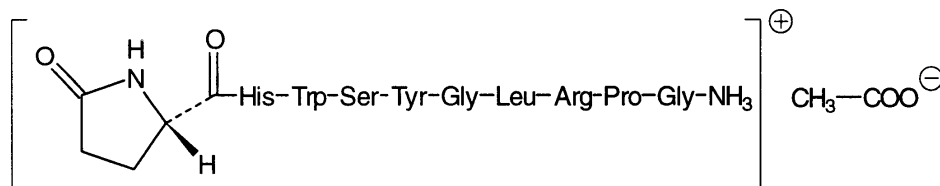
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 7,51 mg  $C_2H_5NO_2$ .



† **Gonadorelini acetat**

Gonadoreliniumacetat

2001

 $C_{57}H_{79}N_{17}O_{15}$  $M_r$  1242,35

Je to acetat peptidu hypothalamu povzbuzujícího uvolnění hormonu stimulujícího folikuly a luteinizačního hormonu z hypofýzy. Počítáno na bezvodou látku prostou kyseliny octové, obsahuje 95,0 % až 102,0 % peptidu  $C_{55}H_{75}N_{17}O_{13}$ . Získává se chemickou syntézou.

**Vlastnosti**

Bílý nebo slabě nažloutlý prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v roztoku kyseliny octové ledové 1% (V/V), mírně rozpustný v methanolu.

**Zkoušky totožnosti**

- A. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku přibližně odpovídá retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- B. Provede 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  $\mu$ 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 do proudu studeného vzduchu, dokud se neodstraní přebytek chloru a vrstva pod nanesenými body se 0,05 ml škrobu s jodidem draselným RS nezbarví modře. Postříká se škrobem s jodidem draselným RS; hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Zkoušky na čistotu**

**Vzhled roztoku.** Roztok zkoušené látky (10 g/l) je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok 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 stanovený obsah peptidu v roztoku 10 mg/100 ml.

**Aminokyseliny.** Zkouška se provede se za použití analyzátoru aminokyselin. Přístroj se kalibruje směsí obsahující ekvimolární množství amoniaku, glycinu a L-forem následujících aminokyselin:

lysín	threonín	alanín	leucín
histidin	serín	valín	tyrosín
arginín	kyselina glutamová	methionín	fenylalanín
kyselina asparagová	prolín	isoleucín	

a polovinu ekvimolárního množství L-cystinu. Pro validaci metody se používá vhodný vnitřní standard jako je *norleucín R*.

**Zkoušený roztok.** 1,0 mg se umístí do vhodné, důkladně vyčištěné zkumavky z tvrdého skla, 100 mm dlouhé, s vnitřním průměrem 6 mm. Přidá se vhodné množství roztoku *kyseliny chlorovodíkové R 50% (V/V)*. Zkumavka se ponoří do mrazicí směsi o teplotě  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , tlak se sníží pod 133 Pa a zkumavka se utěsní. 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 pětkrát 0,2 ml *vody R* do 10ml baňky a 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 převede do tlumivého roztoku vhodného pro analyzátor aminokyselin a zředí se jím na vhodný objem. Do analyzátoru aminokyselin se aplikuje vhodný objem.

Obsah každé aminokyseliny se vyjádří v molech. Relativní poměry aminokyselin se vypočítají tak, že jedna sedmina součtu látkového množství histidinu, kyseliny glutamové, leucinu, prolínu, glycinu, tyrosinu a argininu odpovídá jedné. Hodnoty klesají v následujících limitech: serín 0,7 až 1,05; kyselina glutamová 0,95 až 1,05; prolín 0,95 až 1,05; glycin 1,9 až 2,1; leucín 0,9 až 1,1; tyrosín 0,7 až 1,05; histidin 0,95 až 1,05 a arginin 0,95 až 1,05. Lysin a isoleucín nejsou přítomny, ostatní aminokyseliny s výjimkou tryptofanu jsou přítomny nejvýše ve stopových množstvích.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29), jak je popsáno v odstavci 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, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %); součet ploch piků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (5 %). Nepřehlídí se k pikům s plochou menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %).

**Kyselina octová (2.5.34).** 4,0 % až 7,5 %.

**Zkoušený roztok.** 10,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (5 + 95) a zředí se stejnou směsí rozpouštědla na 10,0 ml.

**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. endotoxinů v miligramu gonadoreliniumacetátu.

## 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).** Obsah lahvičky *gonadorelinu CRL* se rozpustí ve *vodě R* tak, aby výsledná koncentrace roztoku 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 zkoušené látky se rozpustí v 1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zahřívá se 4 h ve vodní lázni při  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ . 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), pH se upraví *triethylaminem R* na hodnotu 2,3 (13 + 87). Průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 215 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním a druhým píkem je nejméně 2,0.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a).

Obsah gonadorelinu (C<sub>55</sub>H<sub>75</sub>N<sub>17</sub>O<sub>13</sub>) se vypočítá z deklarovaného obsahu *gonadorelinu CRL* a z ploch píků na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a).

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- množství peptidu v obalu,
- kde je to vhodné, zda je látka sterilní,
- kde je to vhodné, zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

“

95. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Gramicidinum zní:

”

---

## † Gramicidinum

Gramicidin



corr2001

CAS 1405-97-6

Je to směs obsahující hlavně tři páry lineárních polypeptidů, obvykle získaných extrakcí z tyrotrcinu, komplexu izolovaného z fermentační živné půdy mikroorganismu *Bacillus brevis* Dubos. Hlavní složkou gramacidinu je L-valin v páru s protějškem L-tryptofanem (gramicidin A1). Počítáno na vysušenou látku, účinnost je nejméně 900 m.j. v miligramu.

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, slabě hygroskopický, prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v cyklohexanu.

Taje při teplotě asi 230 °C.

### Zkoušky totožnosti

A. 0,100 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml. Měří se absorbance roztoku při 240 nm až 320 nm (2.2.25). Roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 282 nm a 290 nm, prodlevu při asi 275 nm a absorpční minimum při 247 nm. Specifická absorbance v maximu při 282 nm je 105 až 125.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

*Zkoušený roztok.* 5 mg se rozpustí ve 3,0 ml *lihu 96% R*.

*Porovnávací roztok (a).* 5 mg *gramicidinu CRL* se rozpustí ve 3,0 ml *lihu 96% R*.

*Porovnávací roztok (b).* 5 mg *tyrotricitinu CRL* se rozpustí ve 3,0 ml *lihu 96% R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 0,5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *methanolu R*, *1-butanolu R*, *vody R*, *kyseliny octové ledové R* a *butylacetatu R* (2,5 + 7,5 + 12 + 20 + 40) po dráze 5 cm. Vrstva se suší 15 min při 125 °C a pak se ponoří do *dimethylaminobenzaldehydu RS2*. Vrstva se zahřívá při 90 °C do objevení skvrn. Hlavní skvrna nebo skupina hlavních skvrn na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením

a velikostí hlavní skvrně nebo skupině hlavních skvrn na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a skvrně nebo skupině skvrn s nejvyšší hodnotou  $R_F$  na chromatogramu porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny nebo dvě zřetelně od sebe oddělené skupiny skvrn.

### Zkoušky na čistotu

**Absorbance.** 0,100 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml. Stejně se připraví roztok *gramicidinu CRL*. Měří se absorbance obou roztoků při 240 nm až 320 nm (2.2.25) a vyhodnotí se absorbance v maximu při 282 nm a v minimu při 247 nm. Pro každý roztok se vypočítá rozdíl absorbancí v maximu a v minimu. Počítáno na vysušenou látku, rozdíl vypočítaný u zkoušené látky se neliší o více než 4,0 % od rozdílu vypočítaného pro *gramicidin CRL*.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 3,0 %. 1,000 g se suší 3 h při 60 °C nad *oxidem fosforečným R* při tlaku nepřesahujícím 0,1 kPa.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení účinnosti

Provede se mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik (2.7.2) za použití turbidimetrické metody a *gramicidinu CRL*.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

Separandum.

96. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Histamini dihydrochloridum zní:

”

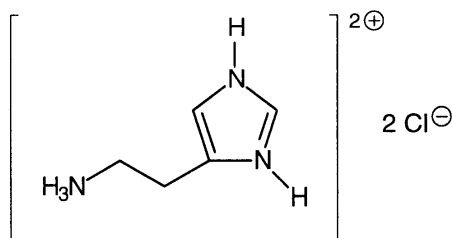
## †† Histamini dihydrochloridum

Histaminiumdichlorid

*Synonymum.* Histaminium dichloratum



2001



$C_5H_{11}Cl_2N_3$

$M_r$  184,07

CAS 56-92-8

Je to 4-(2-amonioethyl)imidazoliumdichlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_5H_{11}Cl_2N_3$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je hygroskopický, velmi snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

### 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 odpovídá spektru tablety *histaminiumdichloridu CRL*. Tablety se připraví odděleně za použití 1 mg zkoušené látky a 1 mg referenční látky.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Histidin, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C. 0,1 g se rozpustí v 7 ml *vody R* a přidají se 3 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (200 g/l) (roztok 1). 50 mg *kyseliny sulfanilové R* se rozpustí ve směsi 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 10 ml *vody R* a přidá se 0,1 ml *dusitanu sodného RS* (roztok 2). Roztok 2 se přidá k roztoku 1 a promíchá se; vznikne červené zbarvení.
- D. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

<sup>1)</sup> 4-(2-amonioethyl)imidazolium-dichlorid

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,5 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se stejným rozpouštědlem na 10 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S 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). 2,85 až 3,60; měří se roztok S.

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

**Zkoušený roztok (a).** 0,5 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 2 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 0,1 g histaminiumdichloridu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 50 mg histidiniumchloridu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 1 ml zkoušeného roztoku (a) a 1 ml porovnávacího roztoku (b) se smíchají.

Na vrstvu se odděleně nanese 1 μl zkoušeného roztoku (a), 1 μl zkoušeného roztoku (b), 1 μl porovnávacího roztoku (a), 1 μl porovnávacího roztoku (b) a 2 μl porovnávacího roztoku (c) a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 26% R, vody R a acetonitrilu R (5 + 20 + 75) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší v proudu vzduchu a vyvíjení se opakuje stejným způsobem. Vrstva se vysuší v proudu vzduchu, postříká se ninhydrinem RS1 a zahřívá se 10 min při 110 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), odpovídající histidinu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**Sířany** (2.4.13). 3 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sířany (0,1 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 0,200 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 0,50 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

80,0 mg se rozpustí ve směsi obsahující 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS a 50 ml lihu 96% R. Titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi prvním a třetím inflexním bodem.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 9,203 mg C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Venenum.

97. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Homatropini hydrobromidum zní:

”

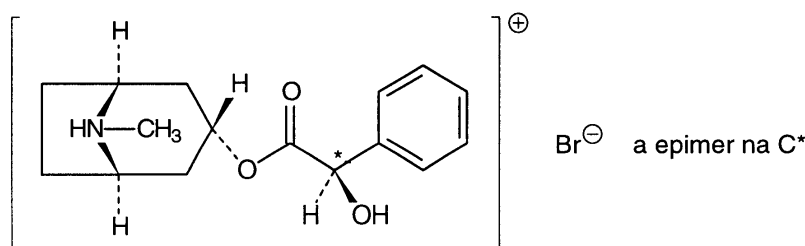
## †† Homatropini hydrobromidum

Homatropiniumbromid

*Synonymum.* Homatropinium bromatum



2001



C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>BrNO<sub>3</sub>

*M*, 356,26

CAS 51-56-9

Je to (1*R*,3*r*,5*S*)-3-[(*RS*)-2-fenyl-2-hydroxyacetoxy]-8-methyl-8-azabicyklo[3,2,1]oktan-8-iumbromid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>BrNO<sub>3</sub>.

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě a mírně rozpustný v lihu 96%.  
Taje při asi 215 °C, za rozkladu.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* A a D.

*Alternativní sestava zkoušek:* B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se odpovídá spektru *homatropiniumbromidu CRL*.
- B. 50 mg se rozpustí v 1 ml *vody R*, přidají se 2 ml *kyseliny octové zředěné RS*, zahřeje se, přidají se 4 ml *trinitrofenolu RS* a ochladí se za občasného zatřepání. Vzniklé krystaly se odfiltrují, promyjí se dvakrát 3 ml *ledové vody R* a vysuší se při 100 °C až 105 °C. Krystaly tají (2.2.14) při 182 °C až 186 °C.
- C. Asi 10 mg se rozpustí v 1 ml *vody R*, přidá se mírný nadbytek *amoniaku 17,5% RS* a třepe se s 5 ml *chloroformu R*. Po oddělení se chloroformová vrstva odpaří do sucha na vodní lázni, přidá se 1,5 ml roztoku *chloridu rtuťnatého R* (20 g/l) v *lihu R* 60% (V/V); vznikne žluté zbarvení, které zahřátím přechází na červené.
- D. Vyhovuje zkoušce (a) na bromidy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1,25 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 25 ml.

<sup>1)</sup> (1*R*,3*r*,5*S*)-3-[(*RS*)-2-fenyl-2-hydroxyacetoxy]-8-methyl-8-azabicyklo[3.2.1]oktan-8-ium-bromid

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok H<sub>9</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,0 až 6,5; 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.** 0,2 g se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a methanolu R (1 + 9) a stejnou směsí se zředí na 5 ml.

**Porovnávací roztok.** 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů vody R a methanolu R (1 + 9) na 100 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé R, vody R a ethylacetatu R (16,5 + 16,5 + 67) po dráze 15 cm. Vrstva se suší při 100 °C až 105 °C do vymizení pachu rozpouštědel a po ochlazení se stříká jodobismutitanem draselným zředěným RS do objevení skvrn. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 0,500 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 0,50 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí ve směsi obsahující 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS a 50 ml lihu 96% R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 35,63 mg C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>BrNO<sub>3</sub>.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Venenum.

“

98. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Hydrogenii peroxidum 3% zní:

”

## Hydrogenii peroxidum 3%

Peroxid vodíku 3%

*Synonyma.* Solutio hydrogenii peroxydati diluta,

Hydrogenium peroxydatum solutum, zředěný roztok peroxidu vodíku



2001

Je to roztok peroxidu vodíku, který obsahuje 2,5 % až 3,5 % sloučeniny H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (M<sub>r</sub> 34,01). Jeden objemový díl tohoto roztoku odpovídá asi deseti objemovým dílům kyslíku. Roztok může obsahovat vhodný stabilizátor.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá kapalina.



### Zkoušky totožnosti

- A. Ke 2 ml se přidá 0,2 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 0,2 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l RS*; do 2 min se roztok odbarví nebo je slabě růžový.
- B. K 0,5 ml se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, 2 ml *etheru R* a 0,1 ml *chromanu draselného RS* a protřepe se; etherová vrstva se zbarví modře.
- C. Stanovení obsahu  $H_2O_2$  je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Kysele reagující látky.** K 10 ml se přidá 20 ml *vody R* a 0,25 ml *červeně methylové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejméně 0,05 ml a nejvýše 1,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

**Organické stabilizátory.** 20 ml se protřepe jedenkrát s 10 ml a dvakrát s 5 ml *chloroformu R*. Spojené chloroformové výtřepky se odpaří za sníženého tlaku při teplotě nepřevyšující 25 °C. Zbytek po odpaření se vysuší v exsikátoru; zůstatek váží nejvýše 5 mg (250 µg/ml).

**Netěkavé látky.** 10 ml se nechá stát v platinové misce tak dlouho, až ustane vývoj plynu. Potom se roztok odpaří na vodní lázni do sucha a suší se při 100 °C až 105 °C; zbytek váží nejvýše 20 mg (2 g/l).

### Stanovení obsahu

10,0 g se zředí *vodou R* na 100,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 20 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a titruje se *manganistanem draselným 0,02 mol/l VS* do růžového zbarvení.

1 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l VS* odpovídá 1,701 mg  $H_2O_2$  nebo 0,56 ml kyslíku.

### Uchovávání

Chráněn před světlem. Pokud roztok neobsahuje stabilizační přísady, uchovává se při teplotě nepřevyšující 15 °C.

### Označování

Obsahuje-li roztok stabilizační přísadu, uvede se v označení na obalu název stabilizační přísady.

### Upozornění

Při styku s oxidovatelnými organickými látkami, některými kovy a v alkalickém prostředí se prudce rozkládá.

99. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Hydroxyzini dihydrochloridum a Hyetellosum znějí:

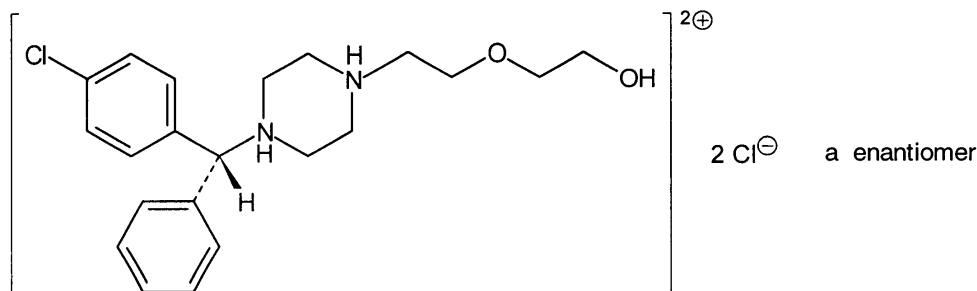
”

## † Hydroxyzini dihydrochloridum

Hydroxyziniumdichlorid

*Synonymum.* Hydroxyzini hydrochloridum

2001



C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

*M*, 447,83

CAS 2192-20-3

Je to (*RS*)-1-[(4-chlorfenyl)fenylmethyl]-4-[2-(2-hydroxyethoxy)ethyl]piperazin-1,4-diiumdichlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### 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 odpovídá spektru 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.

<sup>1)</sup> (*RS*)-1-[(4-chlorfenyl)fenylmethyl]-4-[2-(2-hydroxyethoxy)ethyl]piperazin-1,4-diium-dichlorid

*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 s 1 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 se shoduje polohou, velikostí a zbarvením s hlavní skvrnou 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 20,0 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*).

**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.* 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 fází na 200,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází 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 oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (3  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs připravená následovně: 0,5 g *methasulfonanu sodného R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *triethylaminu R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (14 + 300 + 686); pH se upraví na hodnotu 2,7 za použití *kyseliny sírové R*. Průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm,

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a) 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.

Nad základní linií chromatogramu porovnávacího roztoku (a) se změří výška (A) píku ležícího těsně před hlavním píkem a výška (B) nejnižšího bodu křivky, oddělující tento pík od píku hydroxyzinu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže hodnota A je desetkrát vyšší než B.

Nastříkne se 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.

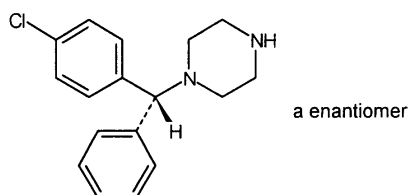
**Stanovení obsahu**

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).

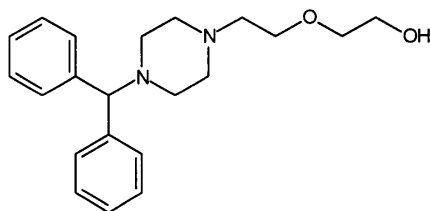
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 22,39 mg  $C_{21}H_{29}Cl_3N_2O_2$ .

**Uchovávání**

Ve vzduchtesných obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

**Nečistoty**

A. (RS)-1-[(4-chlorfenyl)fenylmethyl]piperazin,



B. 2-{2-[4-(difenylmethyl)piperazin-1-yl]ethoxy}ethanol<sup>2)</sup> (dekloxyzin).

**Hyetellosum**

Hyetelosa

*Synonyma.* Hydroxyethylcellulosum, hydroxyethylcelulosa



CAS 9004-62-0

Je to částečně O-(2-hydroxyethylovaná) celulosa<sup>1)</sup>.

**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.

<sup>2)</sup> 2-{2-[4-(difenylmethyl)piperazin-1-yl]ethoxy}ethan-1-ol

<sup>1)</sup> O-(2-hydroxyethylovaná) celulosa

## 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 vločkovitá 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  $\check{Z}_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,5 až 8,5; měří se roztok S.

**Zdánlivá viskozita.** 75 % až 140 % hodnoty uvedené v označení na obalu. Množství odpovídající 2,00 g vysušené zkoušené látky se za promíchávání přenesou 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 nebo 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 *methylbenzothiazolinonhydrochloridu 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 intenzivněji zbarven 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 vzorek.** 1,00 g zkoušené látky (*M<sub>T</sub>*) se přenese do 5ml lahvičky a přidá se 1 ml *vody R*. Bobtná ve vodě, ale nerozpouští se.

**Porovnávací vzorek (a).** 1,00 g (*M<sub>R</sub>*) zkoušené látky se přenese do 5ml lahvičky a přidá se 0,2 ml (odpovídá 225 mg) ochlazeného *ethylenoxidu RS* a 0,8 ml *vody R*. Bobtná ve vodě, ale nerozpouští se.

**Porovnávací vzorek (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 butylkaučukovou membránou a zátkou se upevní hliníkovým nebo polytetrafluorethylenovým uzávěrem.*

Podmínky statického head-space nástříku jsou 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,
- nástřík: 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 nástříkového prostoru se udržuje na 150 °C a teplota detektoru na 250 °C.

Nastříkne se 1,0 ml plynné fáze porovnávacího vzorku (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 vzorku (b) je nejméně 3,5.

Nastříkne se odděleně po 1,0 ml plynné fáze zkoušeného vzorku a porovnávacího vzorku (a). Na chromatogramu zkoušeného vzorku plocha žádného píku odpovídajícího *ethylenoxidu* není větší než polovina plochy píku *ethylenoxidu* na chromatogramu porovnávacího vzorku (a).

Obsah *ethylenoxidu* v µg/g se vypočítá podle vztahu:

$$C = \frac{C_{EO}}{M_{EO} \cdot 10},$$

kde

$$\frac{A_T \cdot M_{EO} \cdot C}{0,25 \cdot (A_R \cdot M_T - A_T \cdot M_R)},$$

v němž značí:

- A<sub>T</sub>* - plochu píku *ethylenoxidu* na chromatogramu zkoušeného vzorku,
- A<sub>R</sub>* - plochu píku *ethylenoxidu* na chromatogramu porovnávacího vzorku (a),
- M<sub>EO</sub>* - hmotnost absorbovaného *ethylenoxidu* (použitého pro přípravu *etylenoxidu RS*) v gramech,
- M<sub>T</sub>* - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném vzorku v gramech,
- M<sub>R</sub>* - hmotnost zkoušené látky v porovnávacím vzorku (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 vzorek.* K 50 mg zkoušené látky ( $M_T$ ) se do 20ml lahvičky přidají 2 µl 2-propanolu R.

*Porovnávací vzorek.* K 50 mg ( $M_R$ ) zkoušené látky se do 20ml lahvičky přidají 2 µl 2-chlorethanolu RS.

*Lahvičky se ihned uzavřou zátkou s butylkaučukovou membránou a zátka se upevní hliníkovým nebo polytetrafluorethylenovým uzávěrem.*

Podmínky head-space nástřiku jsou obvykle následující:

Baňka se propláchně 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,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové lineární rychlosti asi 60 cm/s,
- plamenioionizačního 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 vzorku a porovnávacího vzorku.

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 vzorku,

$A_R$  - plochu píku 2-chlorethanolu na chromatogramu porovnávacího vzorku,

$M_T$  - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném vzorku v gramech,

$M_R$  - hmotnost zkoušené látky v porovnávacím vzorku 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 milipascalsekundách.

100. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ichthammolum zní:

”

## Ichthammolum

Ichthamol

*Synonymum.* Ichthammolum



corr2001

CAS 8029-68-3

Je to produkt, který se získává destilací určitých živičných krystalických břidlic, následnou sulfonací získaného destilátu a jeho neutralizací amoniakem.

Látka obsahuje 50,0 % až 56,0 % sušiny. Počítáno na sušinu, obsahuje 4,5 % až 7,0 % celkového amoniaku ( $\text{NH}_3$ ;  $M_r$  17,03) a nejméně 10,5 % organicky vázané síry; nejvýše 20,0 % celkové síry je ve formě síranu.

### Vlastnosti

Hustá černohnědá kapalina, mísitelná s vodou a s glycerolem. Je těžce rozpustný v lihu 96%, v etheru, v mastných olejích a v tekutém parafinu. Tvoří homogenní směsi s voskem z ovčí vlny a s vazelínou.

### Zkoušky totožnosti

- A. 1,5 g se rozpustí v 15 ml *vody R* (roztok A). Ke 2 ml roztoku A se přidají 2 ml *kyseliny chlorovodíkové R*; vznikne pryskyřičná sraženina. Tekutina nad sraženinou se slije. Sraženina je částečně rozpustná v *etheru R*.
- B. 2 ml roztoku A ze zkoušky A vyhovují zkoušce na amonné soli a soli těkavých bází (2.3.1).
- C. Směs roztoku A a *hydroxidu sodného zředěného RS* získaná ve zkoušce B se odpaří a vyžihá. Zbytek se smíchá s 5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*; uvolňující se páry barví *papír s octanem olovnatým R* hnědě nebo černě. Roztok se zfiltruje; filtrát vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 10,0 ml čirého filtrátu získaného ve zkoušce Celkový amoniak se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS* nebo *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS*.

**Relativní hustota** (2.2.5). 1,040 až 1,085; stanoví se se směsí stejných objemových dílů zkoušené látky a *vody R*.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,3 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

**Sušina.** Do odvážené váženky obsahující 2 g *písku R* předem vysušeného do konstantní hmotnosti, se přenesou 1,000 g zkoušené látky a malá skleněná tyčinka. Zahřívá se 2 h na vodní lázni za častého míchání a suší se v sušárně při 100 °C až 105 °C tak dlouho, dokud rozdíl dvou po sobě následujících vážení není větší než 2,0 mg. Druhé vážení následuje po opakovaném hodinovém sušení.

**Celkový amoniak.** 2,50 g se rozpustí ve 25 ml *teplé vody R*, převede se do 250 ml odměrné baňky, přidá se 200 ml *chloridu sodného RS* a zředí se *vodou R* na 250,0 ml. Roztok se zfiltruje a prvních 20 ml filtrátu se odstraní. Ke 100,0 ml čirého filtrátu se přidá 25 ml *formaldehydu RS* předem zneutralizovaného na *fenolfalein RS1* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do slabě růžového zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 1,703 mg  $\text{NH}_3$ .



**Organicky vázaná síra.** 0,500 g se v asi 50ml porcelánové misce smíchá se 4 g *uhličitanu sodného bezvodého R* a s 3 ml *dichlormethanu R* a zahřívá se za stálého míchání, dokud se všechn dichlormethan neodpaří. Potom se přidá 10 g hrubě práškovaného *dušičnanu měďnatého R*, důkladně se promíchá a směs se velmi opatrně zahřívá nad malým plamenem. Po proběhnutí reakce se zvýší teplota a zahřívá se tak dlouho, až reakční směs zčerná. Po vychladnutí se miska umístí do velké kádinky a přidá se 20 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Po proběhnutí reakce se přidá 100 ml *vody R*, zahřeje se k varu a zahřívá se, dokud se všechn oxid měďnatý nerozpustí. Roztok se zfiltruje, filtrát se zředí 400 ml *vody R*, zahřeje se k varu a přidá se 20 ml *chloridu barnatého RS1*. Nechá se stát 2 h a zfiltruje se. Filtr se sraženinou se po promytí *vodou R* usuší a žihá při asi 600 °C, dokud se dvě následující vážení neliší o více než 0,2 % hmotnosti zbytku.

1 g zbytku odpovídá 0,1374 g celkové síry, jejíž obsah se vyjádří v procentech.

Obsah organicky vázané síry v procentech se vypočítá odečtením obsahu síry ve formě síranu od celkového obsahu síry.

**Síra ve formě síranu.** 2,000 g se rozpustí ve 100 ml *vody R*, přidají se 2 g *chloridu měďnatého R* rozpuštěné v 80 ml *vody R*, zředí se *vodou R* na 200,0 ml, promíchá se a zfiltruje. 100,0 ml filtrátu se zahřeje téměř k varu, přidá se 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a po kapkách 5 ml *chloridu barnatého RS1* a zahřeje se na vodní lázni. Zfiltruje se, sraženina se promyje *vodou R*, vysuší se a žihá při teplotě asi 600 °C, dokud se dvě následující vážení neliší o více než 0,2 % hmotnosti zbytku.

1 g zbytku odpovídá 0,1374 g síry ve formě síranů.

Vypočítá se obsah síry ve formě síranů v procentech.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

“

101. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Idoxuridinum doplňuje článek Ifosfamidum, který zní:

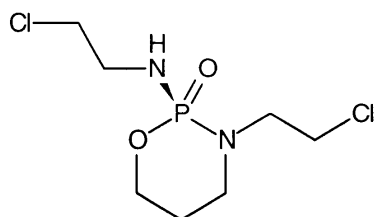
”

## Ifosfamidum

Ifosfamid



2001



a enantiomer

$C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$

$M_r$  261,09

CAS 3778-73-2

Je to (*RS*)-*N*,3-bis(2-chlorethyl)-1,3,2-oxazafosfinan-2-amin-2-oxid<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>7</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický hygroskopický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a snadno rozpustný v dichlormethanu.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá referenčnímu spektru *Ph. Eur. tablety ifosfamidu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 5,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého *R* a zředí se jí na 50,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok *S* je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *Ž*<sub>7</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Kyselý nebo zásaditě reagující látky.** 5 ml roztoku *S* se zředí vodou prostou oxidu uhličitého *R* na 50 ml. K 10 ml tohoto roztoku se přidá 0,1 ml červeně methylové *RS*. Ke změně zbarvení indikátoru do červena se spotřebuje nejvýše 0,1 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l *VS*. K dalším 10 ml roztoku se přidá 0,1 ml fenolftaleinu *RS*. Ke změně zbarvení indikátoru do růžova se spotřebuje nejvýše 0,3 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l *VS*.

**Optická otáčivost** (2.2.7). –0,10° až +0,10°, měří se úhel optické otáčivosti roztoku *S*.

### Příbuzné látky

**A.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro *TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 1,00 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů methanolu *R* a vody *R* a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25 mg ifosfamidu nečistoty *A CRL* a 25 mg chlorethylamoniumchloridu *R* (nečistota *C*) se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů methanolu *R* a vody *R* a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 100 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 15 mg ifosfamidu nečistoty *B CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů methanolu *R* a vody *R* a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 100 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 5 mg ethanolaminu *R* (nečistota *D*) a 20 mg ifosfamidu nečistoty *A CRL* a 80 mg chlorethylamoniumchloridu *R* (nečistota *C*) se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů methanolu *R* a vody *R* a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 100 ml.

Na vrstvu se nanese po 10 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů vody *R*, methanolu *R*, kyseliny octové bezvodé *R* a dichlormethanu *R* (10 + 15 + 25 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se 45 min suší při 115 °C. Na dno komory se umístí odpařovací miska obsahující směs stejných objemových dílů roztoku manganistanu draselného *R* (3,2 g/l) a kyseliny chlorovodíkové zředěné *RS*, komora se uzavře a nechá se 10 min stát. Deska ještě horká se vloží do komory tak, aby stacionární fáze nepřišla do styku s roztokem. Komora se uzavře. Vrstva se vystaví na 20 min působení par chloru. Vrstva se vyjme a vystaví se působení proudu studeného vzduchu tak dlouho, až je chlor odstraněn (asi 20 min) a až část vrstvy pod startem nereaguje s kapkou škrobu s jodidem draselným *RS* za vzniku modrého zbarvení. Zamezí se dalšímu působení proudu studeného vzduchu. Vrstva se ponoří na 5 s do roztoku tetramethylbenzidinu *R* (1 g/l) v lihu 96% *R*. Vrstva se usuší a pozoruje se. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající nečistotě *A* nebo nečistotě *C* není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,25 %); žádná skvrna odpovídající nečistotě *B* není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,15 %); žádná další skvrna není intenzivnější než hlavní skvrna na

<sup>1)</sup> (*RS*)-*N*,3-bis(2-chlorethyl)-1,3,2-oxazafosfinan-2-amin-2-oxid

chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,15 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou tři zřetelně oddělené skvrny.

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

*Zkoušený roztok.* 0,200 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 5 mg *ifosfamidu nečistoty E CRL* a 5 mg *ifosfamidu nečistoty F CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 100 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg *ifosfamidu nečistoty E CRL* a 10 mg *ifosfamidu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 100 ml.

Na vrstvu se nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směs objemových dílů *dichlormethanu R* a *acetonu R* (1 + 10) po dráze 15 cm. Vrstva se 45 min suší při 115 °C. Postupuje se způsobem uvedeným ve zkoušce A na Příbuzné látky. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající nečistotě E nebo nečistotě F není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,25 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**Chloridy** (2.4.4). 5 ml roztoku S se zředí vodou R na 15 ml. Čerstvě připravený roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100  $\mu$ g/g).

**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).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se použijí do 24 h.*

*Roztok A.* 50,0 mg *ethylparabenu R* se rozpustí v 25 ml *líhu 96% R*, zředí se vodou R na 100,0 ml a promíchá se.

*Zkoušený roztok.* K 0,150 g se přidá 10,0 ml roztoku A a zředí se vodou R na 250,0 ml.

*Porovnávací roztok.* K 15,0 mg *ifosfamidu CRL* se přidá 1,0 ml roztoku A a zředí se vodou R na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm a naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (30 + 70); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 195 nm.

Šestkrát se nastříkne po 1  $\mu$ l porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem ifosfamidu a píkem ethylparabenu je nejméně 6,0 a relativní směrodatná odchylka plochy píku ifosfamidu je nejvýše 2,0 %.

Nastříkne se 1  $\mu$ l zkoušeného roztoku a vypočítá se procentuální obsah  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$  z plochy odpovídajícího píku na získaném chromatogramu a z deklarovaného obsahu *ifosfamidu CRL*.

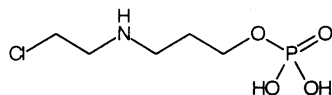
### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

### Nečistoty

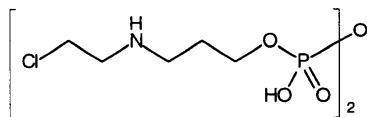
#### Příbuzné látky, zkouška A

*Kvalifikované nečistoty*

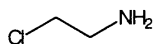


A. 3-[(2-chlorethyl)amino]propyl-dihydrogen-fosfat<sup>2)</sup>

<sup>2)</sup> 3-[(2-chlorethyl)amino]propyl-dihydrogen-fosfát

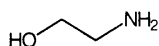


B. bis{3-[(2-chlorethyl)amino]propyl}-dihydrogen-difosfat<sup>3)</sup>,



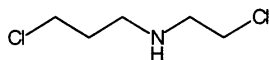
C. 2-chlorethylamin<sup>4)</sup>,

*Jiné detegovatelné nečistoty*

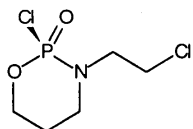


D. 2-aminoethanol<sup>4)</sup>.

**Příbuzné látky, zkouška B**



E. (2-chlorethyl)(3-chlorpropyl)amin,



a enantiomer

F. (*RS*)-2-chlor-3-(2-chlorethyl)-1,3,2-oxazafosfinan-2-oxid.

<sup>3)</sup> bis{3-[(2-chlorethyl)amino]propyl}-dihydrogen-difosfát

<sup>4)</sup> 2-aminoethan-1-ol

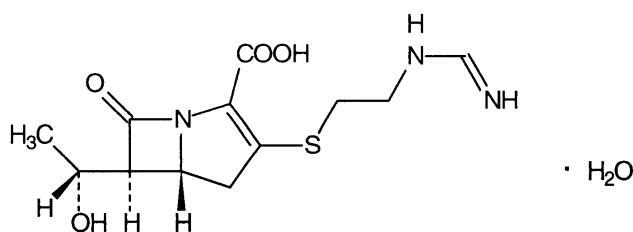
102. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Imipenemum zní:

”

## Imipenemum monohydricum

Monohydrát imipenemu

*Synonyma.* Imipenemum, imipenem



$C_{12}H_{17}N_3O_4S \cdot H_2O$

$M_r$  317,36

CAS 74431-23-5

Je to monohydrát kyseliny (5*R*,6*S*)-6-[(*R*)-1-hydroxyethyl]-3-{[2-[(iminomethyl)amino]ethyl]-thio}-7-oxo-1-azabicyklo[3,2,0]hept-2-en-2-karboxylové<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{12}H_{17}N_3O_4S$ .

### Vlastnosti

Bílý téměř bílý nebo světle žlutý prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v methanolu.

### Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *imipenemu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,500 g se rozpustí v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (3)* a zředí se jím na 50 ml. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než nejpodobnější porovnávací barevný roztok intenzity 6 (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,5 až 7,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,500 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +84° až +89°, počítáno na bezvodou látku a měřeno při 25 °C; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,125 g v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (3)* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) popsaná ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a chromatogram se

<sup>1)</sup> monohydrát kyseliny (5*R*,6*S*)-6-[(*R*)-1-hydroxyethyl]-3-{[2-[(iminomethyl)amino]ethyl]sulfanyl}-7-oxo-1-azabicyklo[3,2,0]hept-2-en-2-karboxylové

zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku thienamycinu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku thienamycinu, není větší než 0,3násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %), součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku thienamycinu, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 5 % až 8 %, stanoví se s 0,200 g zkoušené látky. Použije se jodosiřičitě činidlo obsahující imidazol místo pyridinu a ke každému stanovení čistá nádobka.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Sterilita** (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,17 m.j. endotoxinu v miligramu.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Roztoky se uchovávají v ledové lázni a použijí se do 8 h od přípravy.*

**Zkoušený roztok**. 40,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *hydrogenfosforečnanu draselného R* (0,135 g/l), předem zneutralizovaného *kyselinou fosforečnou, zředěnou RS* na hodnotu pH 6,8 (0,7 + 99,3), a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (a)**. 40,0 mg *imipenemu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *hydrogenfosforečnanu draselného R* (0,135 g/l), předem zneutralizovaného *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu pH 6,8 (0,7 + 99,3), a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b)**. 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *hydrogenfosforečnanu draselného R* (0,135 g/l), předem zneutralizovaného *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu pH 6,8 (0,7 + 99,3), a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (c)**. 20 ml zkoušeného roztoku, jehož pH bylo předem upraveno na hodnotu 10 *hydroxidem sodným RS*, se 5 min zahřívá při 80 °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, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *hydrogenfosforečnanu draselného R* (8,7 g/l), předem zneutralizovaného *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu pH 7,3 (0,7 + 99,3). Průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Citlivost detektoru se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas imipenemu asi 9 min a relativní retenční čas thienamycinu vztažený k imipenemu asi 0,8. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem imipenemu a píkem thienamycinu je nejméně 3,5. Nastříkne se šestkrát po 20 μl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku imipenemu je nejvýše 1,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

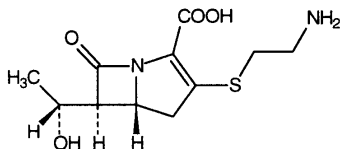
### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, při teplotě 2 °C až 8 °C. Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilních, vzduchotěsných, zabezpečených obalech.

**Označování**

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

**Nečistoty**

A. kyselina (5*R*,6*S*)-3-[(2-aminoethyl)thio]-6-[(*R*)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-1-azabicyklo-[3,2,0]hept-2-en-2-karboxylová<sup>2)</sup> (thienamycin).

“

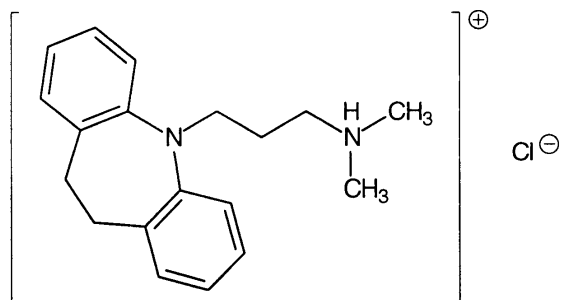
103. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Imipramini hydrochloridum zní:

”

**† Imipramini hydrochloridum**

Imipraminiumchlorid

*Synonymum.* Imipraminium chloratum

  
2001

 $C_{19}H_{25}ClN_2$ 
 $M_r$  316,87

CAS 113-52-0

<sup>2)</sup> kyselina (5*R*,6*S*)-3-[(2-aminoethyl)sulfanyl]-6-[(*R*)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-1-azabicyklo-[3.2.0]hept-2-en-2-karboxylová

Je to [3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-yl)]propyl]dimethylamoniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>.

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě žlutý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, C a F.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, D, E a F, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 170 °C až 174 °C.

B. 20 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS* a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* na 10,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 230 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 251 nm a prodlevu při 270 nm. Specifická absorbance v maximu je asi 260.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *imipraminiumchloridu CRL*.

D. Asi 5 mg se rozpustí ve 2 ml *kyseliny dusičné R*; vzniká intenzivně modré zbarvení.

E. Asi 50 mg se rozpustí ve 3 ml *vody R* a přidá se 0,05 ml roztoku *hydrochinonu R* (25 g/l) v *methanolu R*; během 15 min nevzniká červené zbarvení.

F. Asi 20 mg vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** Ke 3,0 g se přidá 20 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, rychle se rozpustí třepáním a rozmělněním skleněnou tyčinkou a zředí se stejným rozpouštědlem na 30 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1). Ihned po přípravě se zředí stejným objemem *vody R*. Tento roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>6</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,6 až 5,0; měří se roztok S ihned po přípravě.

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

**Zkoušený roztok.** 0,25 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. Připravuje se těsně před použitím.

**Porovnávací roztok (a).** 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 50 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5 mg *iminodibenzylu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100 ml. Připravuje se těsně před použitím.

Na vrstvu se nanese po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R*, *vody R*, *kyseliny octové ledové R* a *ethylacetatu R* (5 + 5 + 35 + 55) po dráze 12 cm. Vrstva se nechá 5 min sušit a potom se postříká roztokem *dichromanu draselného R* (5 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny sírové R* a *vody R* (1 + 4) a ihned se pozoruje. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je modrá hlavní skvrna. Žádná skvrna odpovídající iminodibenzylu na chromatogramu zkoušeného roztoku není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %). Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající iminodibenzylu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %).

**Těžké kovy** (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 4 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.

<sup>1)</sup> [3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-yl)]propyl]dimethylamonium-chlorid



## Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 50 ml *lihu 96% R* a 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 31,69 mg  $C_{19}H_{25}ClN_2$ .

## Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

“

104. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Iodum zní:

”

## † Iodum

Jod



2001

 $I_2$  $M_r$  253,81

CAS 7553-56-2

Obsahuje 99,5 % až 100,5 % I.

## Vlastnosti

Šedofialové křehké destičky nebo malé krystaly s kovovým leskem. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v *lihu 96%*, těžce rozpustný v glycerolu, velmi snadno rozpustný v koncentrovaných roztocích jodidů. Jod sublimuje již za pokojové teploty.

## Zkoušky totožnosti

- A. Několik částic zkoušené látky se zahřívá ve zkumavce; vznikají fialové páry, které sublimují za vzniku modravě černého krystalického sublimátu.
- B. K nasycenému roztoku se přidá *škrob RS*; vznikne modré zbarvení, které zahřátím mizí. Po ochlazení se zbarvení opět objeví.

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 3,0 g se roztře s 20 ml *vody R*, směs se zfiltruje, filtr se promyje a filtrát se zředí *vodou R* na 30 ml. K filtrátu se přidá 1 g *zinku práškového R*. Po odbarvení se směs zfiltruje, filtr se promyje *vodou R* a filtrát se zředí *vodou R* na 40 ml.

**Bromidy a chloridy.** K 10 ml roztoku S se přidají 3 ml *amoniaku 17,5% RS* a 6 ml *dusičnanu stříbrného RS2*. Směs se zfiltruje, filtr se promyje *vodou R* a filtrát se zředí *vodou R* na 20 ml. K 10 ml tohoto roztoku se přidá 1,5 ml *kyseliny dusičné R*; po 1 min roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací roztok připravený současně smícháním 10,75 ml

vody R, 0,25 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS, 0,2 ml kyseliny dusičné zředěné RS a 0,3 ml dusičnanu stříbrného RS2 (250 µg/g).

**Netěkavé látky.** 1,00 g se zahřívá v porcelánové misce na vodní lázni do odpaření jodu. Zbytek sušený při 100 °C až 105 °C váží nejvýše 1 mg (0,1 %).

### Stanovení obsahu

0,200 g se přenese do baňky obsahující 1 g jodidu draselného R a 2 ml vody R a přidá se 1 ml kyseliny octové zředěné RS. Po úplném rozpuštění zkoušené látky se přidá 50 ml vody R a titruje se thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS za použití škrobu RS jako indikátoru.

1 ml thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 12,69 mg I.

### Uchovávání

Separandum.

“

105. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Isoleucinum doplňuje článek Isomaltum, který zní:

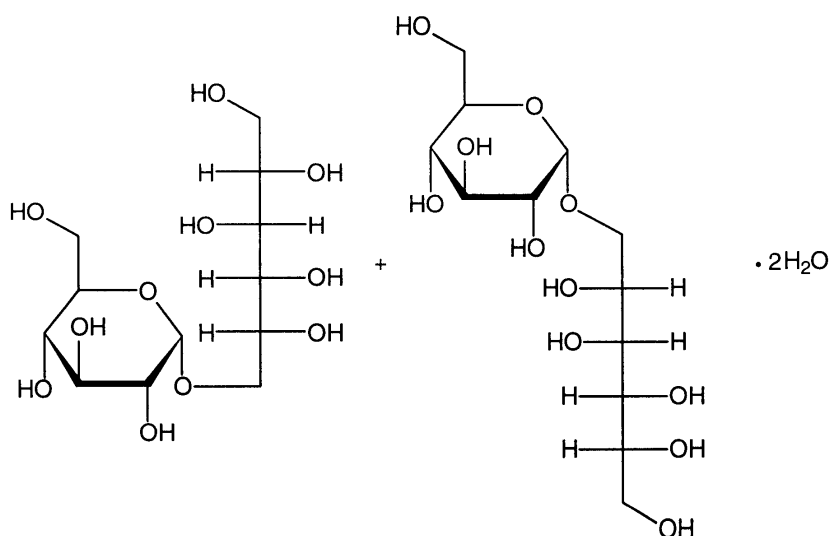
”

## Isomaltum

Isomalt



2001



$C_{12}H_{24}O_{11}$  ( $M_r$  344,31),  $C_{12}H_{24}O_{11} \cdot 2H_2O$

( $M_r$  380,34)

CAS 64519-82-0

Je to směs obsahující 98,0 % až 102,0 % 6-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-glucitolu (6-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-sorbitolu<sup>1)</sup>, 1,6-GPS) a 1-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-mannitolu<sup>2)</sup> (1,1-GPM) a obsah ani jedné ze dvou složek není menší než 3,0 %, počítáno na bezvodou látku. Obsah 1,6-GPS a obsah 1,1-GPM v procentech se uvede v označení na obalu.

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek nebo zrna. Je snadno rozpustný ve vodě a velmi těžce rozpustný v ethanolu.

## Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok. 50 mg isomaltu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1  $\mu$ l každého roztoku a opatrně se startovní body vysuší teplým vzduchem. Využívají se směsi objemových dílů kyseliny octové R, kyseliny propionové R, vody R, ethylacetatu R a pyridinu R (5 + 5 + 10 + 50 + 50) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší v proudě teplého vzduchu a ponoří se na 3 s do roztoku jodistanu sodného R (1 g/l). Vrstva se usuší v proudě horkého vzduchu, a ponoří se na 3 s do směsi objemových dílů kyseliny octové R, anisaldehydu R, kyseliny sírové R a ethanolu R (1 + 1 + 5 + 90). Vrstva se suší v proudě horkého vzduchu dokud se neobjeví barevné skvrny. Barva pozadí může být zvýrazněna proudem teplého vzduchu. Pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě modrošedé skvrny s hodnotou  $R_F$  asi 0,13 (1,6-GPS) a 0,16 (1,1-GPM). Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. K 3 ml čerstvě připraveného roztoku pyrokatecholu R (100 g/l) se přidá 6 ml kyseliny sírové R za chlazení ve vodě s ledem. K 3 ml chlazené směsi se přidá 0,3 ml roztoku zkoušené látky (100 g/l). Opatrně se zahřívá nad přímým plamenem asi 30 s; vzniká růžové zbarvení.

## Zkoušky na čistotu

**Vodivost** (2.2.38). Nejvýše 20  $\mu$ S.cm<sup>-1</sup>. 20,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. Vodivost se měří za mícháním magnetickou míchačkou při teplotě 20 °C.

**Redukující cukry**. 3,3 g se rozpustí mírným zahřátím v 10 ml vody R, ochladí se a přidá se 20 ml citronanu měďnatého RS a několik skleněných kuliček. Zahřívá se tak, aby po 4 min bylo dosaženo varu, vaří se 3 min a po rychlém ochlazení se přidá 100 ml roztoku kyseliny octové ledové R 2,4% (V/V) a 20,0 ml jodu 0,025 mol/l VS. Za nepřetržitého třepání se přidá 20 ml směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (6 + 94) a po rozpuštění sraženiny nadbytek jodu se titruje thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS jako indikátoru přidaného před koncem titrace. Spotřebuje se ne méně než 12,8 ml thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS (0,3 %, počítáno jako glukosa).

**Příbuzné látky**. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího mannitolu nebo sorbitolu není větší než polovina plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %); plocha žádného píku, kromě dvou hlavních píků odpovídajících 1,1-GMP a 1,6-GPS a píků odpovídajících mannitolu a sorbitolu, není větší než polovina plochy píku sorbitolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě píků odpovídajících 1,1-GMP

<sup>1)</sup> 6-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-glucitol (6-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-sorbitol)

<sup>2)</sup> 1-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-mannitol

a 1,6-GPS, není větší než 2násobek plochy píku sorbitolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (2 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než desetina plochy píku sorbitolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,1 %).

**Olovo v cukrech (2.4.10).** Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5 µg/g).

**Nikl (2.4.15).** Vyhovuje limitní zkoušce na nikl v polyolech (1 µg/g).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 7,0 %; stanoví se s 0,3 g zkoušené látky jako rozpouštědlo se použije směs 20 ml *methanolu bezvodého R* a 20 ml *formamidu R* při (50 ± 5) °C.

## Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 1,00 g se rozpustí ve 20 ml *vody R* a zředí se jí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok.** V 50ml baňce se rozpustí 1,00 g *isomaltu CRL* se rozpustí ve 20 ml *vody R*. V jiné baňce se rozpustí 100 mg *sorbitolu CRL* a 100 mg *mannitolu CRL* v 5 ml *vody R* a zředí se jí na 10,0 ml. Smísí se 1,0 ml tohoto roztoku mannitolu/sorbitolu se 20 ml roztoku *isomaltu CRL* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové předkolony délky 30 mm a vnitřního průměru 4,6 mm a nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněnými *katexem silně kyselým (vápníkové formy) R* (9 µm) a udržované při teplotě (80 ± 1) °C,
- mobilní fáze, kterou je odplyněná *voda R*; průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- diferenčního refraktometru udržovaného při konstantní teplotě.

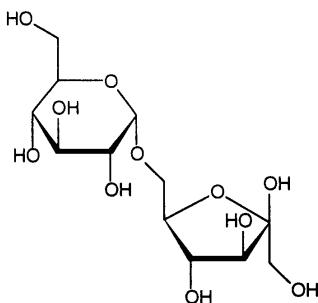
Nastříkne se po 20 µl každého roztoku a chromatogram se zaznamenává, dokud není sorbitol zcela eluován (asi 25 min). Je-li chromatogram zaznamenáván za předepsaných podmínek, retenční čas 1,1-GPM je asi 12,3 min a relativní retenční časy vzhledem k 1,1-GPM jsou: 1,6-GPM asi 1,2, mannitolu asi 1,6, sorbitolu asi 2,0 a isomaltosy asi 0,8.

Vypočítá se obsah isomaltu (1,1-GPM a 1,6-GPM) z ploch píků 1,1-GPM a 1,6-GPM a z deklarovaného obsahu 1,1-GPM a 1,6-GPM v *isomaltu CRL*.

## Označování

V označení na obalu se uvede obsah 1,6-GPM a 1,1-GPM v procentech.

## Nečistoty

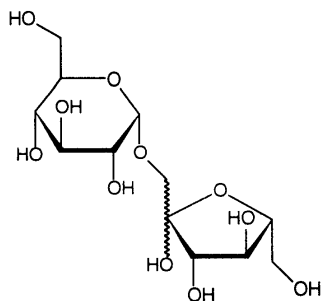


A. 6-D-glukopyranosyl-(1→5)-β-D-threo-2-pentulofuranosa<sup>3)</sup> (isomaltulosa),

B. D-mannitol,

C. D-glucitsol (sorbitol),

<sup>3)</sup> 6-D-glukopyranosyl-(1→5)-β-D-threo-pent-2-ulofuranosa



D. D-xylofuranosyl- $\alpha$ -D-glukopyranosid (trehalulosa).

“

106. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Juniperi fructus* zní:

”

## Juniperi fructus

Plod jalovce

*Synonyma.* Juniperi pseudofructus, Fructus juniperi



2001

Je to zralý usušený nepravý plod (galbulus) druhu *Juniperus communis* L. Obsahuje nejméně 10 ml silice v 1 kilogramu drogy, počítáno na bezvodou drogu.

### Vlastnosti

Droga má výrazný aromatický pach, zvláště po rozdrcení.  
Makroskopický a mikroskopický popis viz, Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A.** Zdužnatělá šiška, podobající se bobuli (galbulus), je kulovitá o průměru až 10 mm, fialově hnědá až černohnědá, často modře ojiněná. Je tvořena třemi masitými plodními šupinami. Na temeni plodu je třípraprsčitý šev s nezřetelnými hrboly mezi jednotlivými paprsky. Na bázi plodu často zbytek stopky. Vnitřní, parenchymatická část je drolivá, nahnědlá, obsahuje tři, zřídka dvě malá podlouhlá ostře trojhranná nahoře zašpičatělá na spodu mírně zaoblená velmi tvrdá semena. Semena jsou přirostlá vnější stranou bazální části k parenchymu plodní šupiny. Semena jsou na zevní straně obklopena velkými, oválnými siličnými nádržkami s lepivou pryskyřicí.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je hnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: úlomky pokožky plodních šupin z buněk se stěnami ztlustlými, tečkovanými, bezbarvými, vyplněnými hnědou hmotou; anomocytické průduchy (2.8.3) jen zřídka; úlomky pokožky z temene plodu s dutinami a zubovitými buňkami; úlomky hypodermis s buňkami ztlustlými, kolenchymatickými; úlomky mezokarpu s velkými tenkostěnnými, většinou okrouhlými parenchymatickými buňkami, s velkými mezibuněčnými dutinami a nepravidelnými, velkými žlutými idioblasty se štěrbinovitými dvůrkami (soudečkové buňky); úlomky schizogenních siličných buněk; úlomky osemení se ztlustlými, tečkovanými bezbarvými sklereidami, z nichž každá obsa-

huje jeden nebo několik hranolovitých krystalů šťavelanu vápenatého; úlomky endospermu a zárodku s tenkostěnnými buňkami obsahujícími mastný olej a aleuronová zrna.

**C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* Směs silice a xylenu ze Stanovení obsahu se zředí hexanem R na 5,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 4,0 mg guajazulenu R a 50 µl cineolu R se rozpustí v 10 ml hexanu R.

Na vrstvu se nanese do pruhů 20 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů ethylacetatu R a toluenu R (5 + 95) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se anisaldehydem RS, zahřívá se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní polovině červená skvrna (guajazulen) a v dolní polovině hnědofialová až šedofialová skvrna (cineol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je intenzivní fialová skvrna (monoterpeny a seskviterpeny) odpovídající polohou skvrně guajazulenu na chromatogramu porovnávacího roztoku, červenofialová skvrna v poloze těsně nad skvrnou cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku, šedofialová skvrna (terpinen-4-ol) v poloze těsně pod skvrnou cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku a těsně pod ní modrá skvrna. Na chromatogramu zkoušeného roztoku může být slabě fialová skvrna odpovídající polohou cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou patrné další skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi** (2.8.2). Nejvýše 5 % nezralých nebo hnědých plodů a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

**Voda**, stanovení destilací (2.2.13). Nejvýše 12,0 %; stanoví se s 20,0 g čerstvě rozmačkané drogy.

**Celkový popel** (2.4.16). Nejvýše 4,0 %.

### Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 20,0 g drogy rozmačkané bezprostředně před stanovením se destiluje 90 min rychlostí 3 ml/min až 4 ml/min v 500ml baňce s 200 ml vody R; do dělené trubice se přidá 0,5 ml xylenu R.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

“

107. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Kalii carbonas zní:

”

## Kalii carbonas

Uhličitan draselný



2001

$K_2CO_3$

$M_r$  138,21

CAS 584-08-7

Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $K_2CO_3$ .

## Vlastnosti

Bílý zrnitý hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

## Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se rozpustí v 10 ml *vody R*; roztok je silně zásaditý (2.2.4).
- B. 2 ml roztoku získaného ve zkoušce A vyhovují zkoušce na uhličitany a hydrogenuhličitany (2.3.1).
- C. 1 ml roztoku získaného ve zkoušce A vyhovuje zkoušce (b) na draslík (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 10,0 g se rozpustí ve 25 ml *vody destilované R*. Pomalu se přidá 14 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Až ustane šumění, povaří se několik minut a po ochlazení se zředí *vodou destilovanou R* na 50 ml.

**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*).

**Chloridy** (2.4.4). 0,50 g se rozpustí v 10 ml *vody R* a opatrně se po kapkách přidá 1 ml *kyseliny dusičné R*. Zahřeje se k varu, po ochlazení se přidá 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 µg/g).

**Sírany** (2.4.13). 7,50 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100 µg/g).

**Vápník** (2.4.3). K 5 ml roztoku S se přidá 1 ml *amoniaku 26% R*. Zahřeje se k varu a po ochlazení 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 se zředí *vodou R* na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

**Těžké kovy** (2.4.8). 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní *roztok olova* (2 µg Pb/ml).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 0,300 g se suší 5 h v sušárně při 120 °C až 125 °C.

## Stanovení obsahu

0,500 g se rozpustí v 50 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) do druhého inflexního bodu.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* odpovídá 69,1 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

## Uchovávání

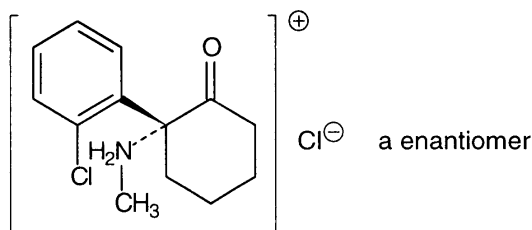
V dobře uzavřených obalech.

108. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ketamini hydrochloridum zní:

”

## † Ketamini hydrochloridum

Ketaminiumchlorid



$C_{13}H_{17}Cl_2NO$

$M_r$  274,19

CAS 1867-66-9

Je to (*RS*)-[1-(2-chlorfenyl)-2-oxocyklohexyl]methylamoniumchlorid<sup>1)</sup>. Obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{13}H_{17}Cl_2NO$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96%.  
Taje při asi 260 °C, za rozkladu.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum zkoušené látky se odpovídá referenčnímu spektru *Ph. Eur. ketaminiumchloridu*.  
B. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 5,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého *R* a zředí se jí na 25 ml.

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

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,5 až 4,1; měří se 10 ml roztoku *S* zředěného vodou prostou oxidu uhličitého *R* na 20 ml.

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 50,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 25,0 mg ketaminu nečistoty *A CRL* se rozpustí v mobilní fázi (je-li třeba za použití ultrazvuku) a zředí se jí na 50,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 0,5 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 100,0 ml. Přípravuje se v čas potřeby.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

<sup>1)</sup> (*RS*)-[1-(2-chlorfenyl)-2-oxocyklohexyl]methylamonium-chlorid



Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové předkolony délky 4 mm a vnitřního průměru 4,0 mm a nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněných sférickým *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze připravené takto: 0,95 g *hexansulfonanu sodného R* se rozpustí v 1 l směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (25 + 75) a přidají se 4 ml *kyseliny octové R*; průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 215 nm.

Nastříkne se po 20 μl každého roztoku. Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající desetinásobku retenčního času ketaminu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení píků ketaminu nečistoty A a ketaminu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je nejméně 1,5 a jestliže retenční čas píku ketaminu je 3 min až 4,5 min. V případě potřeby se upraví koncentrace vody a acetonitrilu v mobilní fázi. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než je 0,2násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Těžké kovy** (2.4.8). 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 μg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní *roztok olova* (2 μg Pb/ml).

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

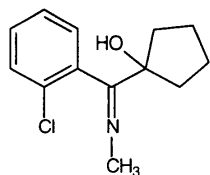
0,200 g se rozpustí v 50 ml *methanolu R* a přidá se 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 27,42 mg C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>Cl<sub>2</sub>NO.

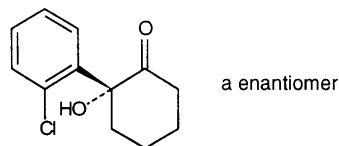
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

### Nečistoty



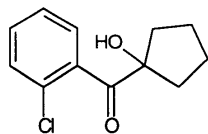
A. 1-[(2-chlorofenyl)(methylimino)methyl]cyklopentanol<sup>2)</sup>,



B. (R,S)-2-(2-chlorofenyl)-2-hydroxycyklohexanon<sup>3)</sup>,

<sup>2)</sup> 1-[(2-chlorofenyl)(methylimino)methyl]cyklopentan-1-ol

<sup>3)</sup> (R,S)-2-(2-chlorofenyl)-2-hydroxycyklohexan-1-on



C. 2-chlorfenyl(1-hydroxycyklopentyl)keton.

“

109. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Lavandulae etheroleum* doplňuje článek *Lavandulae flos*, který zní:

”

## Lavandulae flos

Levandulový květ

*Synonymum.* Flos lavandulae



2001

Je to usušený květ druhu *Lavandula angustifolia* P. MILL. (*L. officinalis* CHAIX.)  
Obsahuje nejméně 13 ml silice v 1 kg drogy, vztaženo na bezvodou drogu.

### Vlastnosti

Droga má výrazný aromatický pach.  
Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Květ krátce stopkatý, kalich trubkovitý, modrošedý, nahoře poněkud rozšířený, pětičetný. Čtyři z ušů jsou velmi krátké, pátý je malý, okrouhlý, koruna modrá, horní pysk dvojlaločný, spodní pysk trojlaločný, čtyři dvoumocné tyčinky s vejčitými prašníky.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je modravě šedý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: mnohobuněčné přeslenitě větvené krycí chlupy; žláznaté chlupy s krátkou nohou a osmibuněčnou hlavičkou (typ *Lamiaceae*); žláznaté chlupy s jednobuněčnou nebo mnohobuněčnou nohou a jednobuněčnou hlavičkou; žláznaté chlupy s dlouhou nepravidelnou (uzlinovitou) nohou a jednobuněčnou hlavičkou, která nasedá na intermediální buňku s hladkou kutikulou; podobné žláznaté chlupy s věncem malých kulovitých buněk umístěných těsně pod intermediální buňkou; úlomky bradavčité pokožky z vnitřní strany koruny; úlomky pokožky kalicha z buněk se stěnami vlnitě zprohýbanými, obsahující hranolovité krystaly šřavelanu vápenatého; kulovitá pylová zrna o průměru asi 45 μm se šesti štěrbinovitými klíčními póry a šesti lišovitými paprčítě uspořádanými ztenčeninami.
- 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 *hexanu R*, protřepává se 5 min a pak se zfiltruje.  
*Porovnávací roztok.* 10 μl *linalolu R* a 10 μl *linalylacetátu R* se rozpustí v 5 ml *hexanu R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů po 10 µl obou roztoků. Vytvoří se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (5 + 95) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu. Postříká se *anisaldehydem RS*, zahřívá se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině šedomodrá skvrna (linalol) a ve střední třetině šedomodrá skvrna (linalylacetat). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou skvrny odpovídající polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku, mezi skvrnami odpovídajícími linalolu a linalylacetatu je červenofialová skvrna (epoxydihydrokaryofylen). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou ještě další skvrny.

D. Hodnotí se chromatogramy ze Zkoušky na čistotu, Jiné druhy a odrůdy rodu *Lavandula*. Retenční časy pěti hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají retenčním časům píků na chromatogramu porovnávacího roztoku. Největší jsou píky linalolu a linalylacetatu.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi (2.8.2).** Nejvýše 3 % stonků a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

**Jiné druhy a odrůdy rodu *Lavandula*.** Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 0,2 ml směsi silice a xylenu ze zkoušky Stanovení silic v rostlinných drogách se *hexanem R* zředí na 5 ml, přidá se 1 g *síranu sodného bezvodého R*, protřepe se a použije se supernatantní tekutina.

**Porovnávací roztok.** 0,1 g *limonenu R*, 0,2 g *cineolu R*, 0,05 g *kafru R*, 0,4 g *linalolu R*, 0,6 g *linalylacetatu R* a 0,2 g *α-terpineolu R* se rozpustí ve 100 ml *hexanu R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kapilární kolony délky asi 60 m a vnitřního průměru asi 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1,5 ml/min,
- plamenionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1/100, s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 15	70		izotermicky lineární gradient
nástříkový prostor detektor	15 - 70	70 → 180 220 220	2	

Nástříknou se shodné objemy roztoků. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek, jednotlivé látky eluují v pořadí uvedeném ve složení porovnávacího roztoku. Zaznamenají se retenční časy těchto látek.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže počet teoretických pater je nejméně 30 000, počítáno pro píky limonenu při 110 °C a je-li rozlišení mezi píky limonenu a cineolu nejméně 1,5.

Porovnáním retenčních časů píků na chromatogramu zkoušeného roztoku s retenčními časy píků na chromatogramu porovnávacího roztoku se identifikuje šest látek přítomných ve zkoušeném roztoku (nepřihlíží se k píkům odpovídajícím hexanu a xylenu).

Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího kafru není větší než 1 % celkové plochy píků.

**Voda,** stanovení destilací (2.2.13). Nejvýše 10,0 %; stanoví se s 20,0 g drogy.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 9,0 %.

### Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 20,0 g drogy se destiluje 2 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min v 1000ml baňce s 500 ml *vody R*, do dělené trubice se přidá 0,5 ml *xylenu R*.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

“

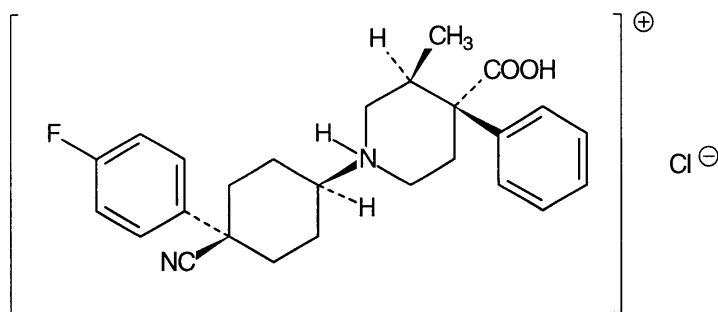
110. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Levistici radix* doplňuje článek *Levocabastini hydrochloridum*, který zní:

”

## † Levocabastini hydrochloridum

Levokabastiniumchlorid

2001



$C_{26}H_{30}ClFN_2O_2$

$M_r$  456,99

CAS 79547-78-7

Je to (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-*cis*-4-kyancyklohexyl]-4-karboxy-3-methylpiperidiniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{26}H_{30}ClFN_2O_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu, těžce rozpustný v lihu 96% a v roztoku *hydroxidu sodného R* (2 g/l).

### Zkoušky totožnosti

- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *levokabastiniumchloridu CRL*.
- 50 mg se rozpustí ve směsi 0,4 ml *amoniaku 17,5% RS* a 2 ml *vody R*. Smíchá se, nechá se 5 min stát a zfiltruje se. Filtrát se okyselí *kyselinou dusičnou zředěnou RS*; vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).
- Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,250 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $\check{Z}_7$  (2.2.2, *Metoda II*).

<sup>1)</sup> (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-*r*-4-kyancyklohexan-*c*-1-yl]-4-karboxy-3-methylpiperidinium-chlorid

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).**  $-102^\circ$  až  $-106^\circ$ , počítáno na vysušenou látku; stanoví se s roztokem S.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapilární elektroforézou (2.2.47). *Roztoky se připraví těsně před použitím.*

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí v roztoku *hydroxidu sodného R* (2 g/l) a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 2,5 mg *levokabastiniumchloridu CRL* a 2,5 mg *levokabastinu nečistoty D CRL* se rozpustí v roztoku *hydroxidu sodného R* (2 g/l) a zředí se jím na 200,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí roztokem *hydroxidu sodného R* (2 g/l) na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí roztokem *hydroxidu sodného R* (2 g/l) na 10,0 ml.

Micelární elektrokinetická chromatografie se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapiláry s efektivní délkou 0,5 m a vnitřním průměrem 75  $\mu\text{m}$ ,
- elektrolytu připraveného takto: 1,08 g *dodecylsírany sodného R* a 0,650 g *hydroxypropyl- $\beta$ -cyklodextrinu R* se rozpustí v 5 ml *2-propanolu R* a zředí se na 50,0 ml *tlumivým roztokem pH 9,0* připraveným takto: 1,39 g *kyseliny borité R* se rozpustí ve *vodě R* a pH se upraví na hodnotu 9,0 *hydroxidem sodným 1 mol/l RS* (asi 9 ml) a zředí se *vodou R* na 100,0 ml,
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm,
- doby nástřiku 5 s za tlaku nástřiku: 3450 Pa,
- gradientu proudu:

Čas (min)	Proud ( $\mu\text{A}$ )
0 - 0,17	0 $\rightarrow$ 75
0,17 - 15	75 $\rightarrow$ 130
15 - 40	130
40 - 60	130 $\rightarrow$ 200

Teplota kapiláry se udržuje na 50  $^\circ\text{C}$ .

Kapilára se ustaluje 2 min roztokem *hydroxidu sodného R* (2 g/l) a pak nejméně 5 min elektrolytem.

Nastříkne se porovnávací roztok (a). Pokud je elektroforegram zaznamenáván za předepsaných podmínek, jsou migrační časy: *levokabastinu* asi 28 min a *nečistoty D* asi 30 min. Zkoušku lze hodnotit, pokud je rozlišení mezi píky *levokabastinu* a *nečistoty D* nejméně 4. Pokud je to nutné, upraví se gradient proudu.

Nastříkne se roztok *hydroxidu sodného R* (2 g/l) jako kontrolní roztok, zkoušený roztok a porovnávací roztok (b). Na elektroforegramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na elektroforegramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na elektroforegramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %). Nepřihlíží se k píkům získaným s kontrolním roztokem a k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na elektroforegramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100  $^\circ\text{C}$  až 105  $^\circ\text{C}$ .

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g v platinovém kelímku.

## Stanovení obsahu

0,175 g se rozpustí v 50 ml lihu 96%, 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 prvním a třetím inflexním bodem.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 22,85 mg  $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{ClFN}_2\text{O}_2$ .

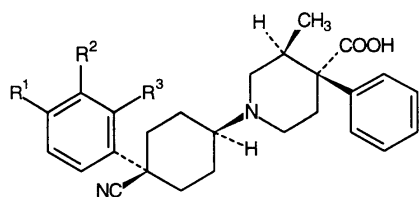
## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

## Nečistoty

Kvalifikované nečistoty: A, B, C, D, E.

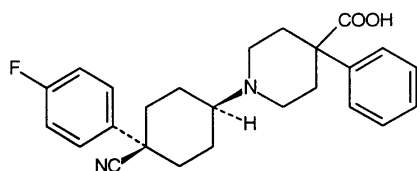
Jiné detegovatelné nečistoty: F, G, H, I.



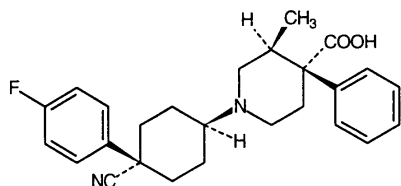
A.  $R^1 = R^2 = R^3 = H$ : kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-(4-fenyl-*cis*-4-kyancyklohexyl)-3-methylpiperidin-4-karboxylová<sup>2)</sup>,

B.  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = F$ : kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-[4-(2-fluorfenyl)-*cis*-4-kyancyklohexyl]-3-methylpiperidin-4-karboxylová<sup>3)</sup>,

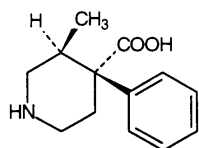
C.  $R^1 = H$ ,  $R^2 = F$ ,  $R^3 = H$ : kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-[4-(3-fluorfenyl)-*cis*-4-kyancyklohexyl]-3-methylpiperidin-4-karboxylová<sup>4)</sup>,



D. kyselina 4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-*cis*-4-kyancyklohexyl]piperidin-4-karboxylová<sup>5)</sup>,



E. kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-*trans*-4-kyancyklohexyl]-3-methylpiperidin-4-karboxylová<sup>6)</sup>,



F. kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-3-methylpiperidin-4-karboxylová,

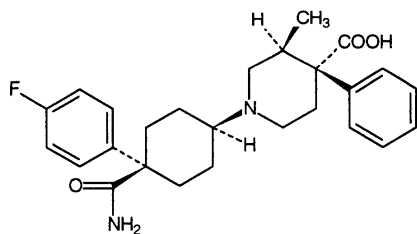
<sup>2)</sup> kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-(4-fenyl-*r*-4-kyancyklohexan-*c*-1-yl)-3-methylpiperidin-4-karboxylová

<sup>3)</sup> kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-[4-(2-fluorfenyl)-*r*-4-kyancyklohexan-*c*-1-yl]-3-methylpiperidin-4-karboxylová

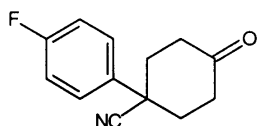
<sup>4)</sup> kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-[4-(3-fluorfenyl)-*r*-4-kyancyklohexan-*c*-1-yl]-3-methylpiperidin-4-karboxylová

<sup>5)</sup> kyselina 4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-*r*-4-kyancyklohexan-*c*-1-yl]piperidin-4-karboxylová

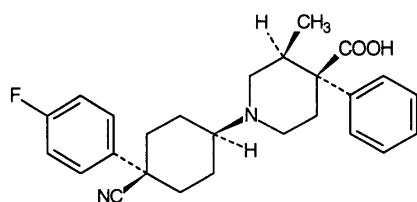
<sup>6)</sup> kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-*r*-4-kyancyklohexan-*t*-1-yl]-3-methylpiperidin-4-karboxylová



G. kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-*cis*-4-karbamoylcyklohexyl]-3-methylpiperidin-4-karboxylová<sup>7)</sup>,



H. 1-(4-fluorfenyl)-4-oxocyklohexan-1-karbonitril,



I. kyselina (3*S*,4*S*)-4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-*cis*-4-kyancyklohexyl]-3-methylpiperidin-4-karboxylová<sup>8)</sup>.

<sup>7)</sup> kyselina (3*S*,4*R*)-4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-*r*-4-karbamoylcyklohexan-*c*-1-yl]-3-methylpiperidin-4-karboxylová

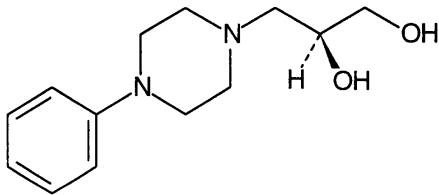
<sup>8)</sup> kyselina (3*S*,4*S*)-4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-*r*-4-kyancyklohexan-*c*-1-yl]-3-methylpiperidin-4-karboxylová

111. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Levodopum doplňuje článek Levodropropizinum, který zní:

”

## † Levodropropizinum

Levodropropizin



$C_{13}H_{20}N_2O_2$

$M_r$  236,31

CAS 99291-25-5

Je to (2*S*)-3-(4-fenylpiperazin-1-yl)propan-1,2-diol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{13}H_{20}N_2O_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v kyselině octové zředěné a v methanolu, těžce rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

- A.** Specifická optická otáčivost (2.2.7) je  $-30,0^\circ$  až  $-33,5^\circ$ , počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,50 g v roztoku kyseliny chlorovodíkové *R* (21 g/l) a zředěním stejným roztokem na 50,0 ml.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru levodropropizinu *CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 9,2 až 10,2; měří se roztok připravený takto: 2,5 g se suspenduje ve vodě prosté oxidu uhličitého *R*, potom se zahřeje do rozpuštění, ochladí se na pokojovou teplotu a zředí se stejným rozpouštědlem na 100 ml.

**Nečistota B a příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 24,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 12,0 mg 1-fenylpiperazinu *R* se rozpustí v methanolu *R* a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* K 24,0 mg levodropropizinu *CRL* se přidá 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 0,5 ml zkoušeného roztoku se smíchá s 1 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se mobilní fází na 100 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktylsilanizovaným s odstínnými koncovými skupinami pro chromatografii základních látek *R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů methanolu *R* a roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného *R* 6,81 g/l (12 + 88) s upraveným pH na hodnotu 3,0 kyselinou fosforečnou *R*; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,



- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se po 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku, porovnávacího roztoku (b) a porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) rozlišení mezi píkem levodropipizinu a píkem nečistoty B není menší než 2,0.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku nečistoty B není větší než plocha píku nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty B, není větší než 0,2násobek plochy píku nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,02násobek plochy píku nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,01 %).

**Nečistota C.** Nejvýše 10  $\mu$ g/g. Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 2,0 g se rozpustí ve zkumavce se zabroušenou zátkou v 5 ml *dichlormethanu R*, zkumavka se uzavře a na 30 min se vloží do ultrazvukové lázně. Potom se přidá 1,0 ml *vody R* a 1 min se intenzivně třepe. Odstředí se po dobu 5 min při asi 100  $g_n$  a použije se horní vrstva.

**Porovnávací roztok (a).** 0,20 g *glycidolu R* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** Ke 2,0 g zkoušené látky se ve zkumavce se zabroušenou zátkou přidá 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) a 4,0 ml *dichlormethanu R*, zkumavka se uzavře a na 30 min se vloží do ultrazvukové lázně. Potom se přidá 1,0 ml *vody R* a 1 min se intenzivně třepe. Odstředí se po dobu 5 min při asi 100  $g_n$  a použije se horní vrstva.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřní stěnou pokrytou vrstvou *poly[(fenyl)(kyanpropyl)][dimethyl]siloxanu R* (tloušťka vrstvy 3  $\mu$ m),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 2 ml/min a dělicím poměru 1 : 12,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 180 °C, teplota vstřikovacího prostoru a teplota detektoru na 250 °C.

Nastříkne se po 1  $\mu$ l zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku nečistoty C není větší než polovina plochy píku nečistoty C na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (10  $\mu$ g/g).

**Enantiomerní čistota.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 10,0 mg se rozpustí v 10,0 ml směsi objemových dílů *ethanolu R* a *hexanu R* (40 + 60). 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10,0 mg *levodropipizinu CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi objemových dílů *ethanolu R* a *hexanu R* (40 + 60). 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10,0 mg *levodropipizinu nečistoty A CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi objemových dílů *ethanolu R* a *hexanu R* (40 + 60). 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí směsí objemových dílů *ethanolu R* a *hexanu R* (40 + 60) na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 1 ml porovnávacího roztoku (a) se smíchá s 1 ml porovnávacího roztoku (b).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem OD pro chirální separace R*,
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *diethylaminu R*, *ethanolu R* a *hexanu R* (0,2 + 5 + 95); průtoková rychlost je 0,8 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se po 20  $\mu$ l všech roztoků. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) rozlišení mezi píkem nečistoty A (první pík) a píkem levodropipizinu není menší než 2,0 a retenční časy hlavních píků na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a) jsou shodné.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku nečistoty A není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (2 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se suší 4 h ve vakuu nad *oxidem fosforečným R* při 60 °C a tlaku 0,15 kPa až 0,25 kPa.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,100 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). Odečte se spotřeba při druhém inflexním bodu.

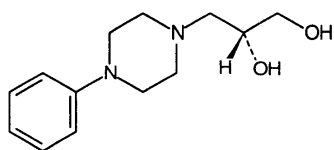
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 11,82 mg  $C_{13}H_{20}N_2O_2$ .

### Uchovávání

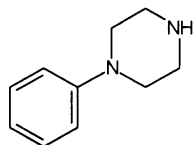
Chráněn před světlem.

Separandum.

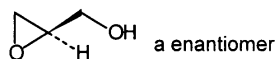
### Nečistoty



A. (2*R*)-3-(4-fenylpiperazin-1-yl)propan-1,2-diol (dextropropizol),



B. 1-fenylpiperazin,



C. [(2*RS*)-oxiran-2-yl]methanol (glycidol).

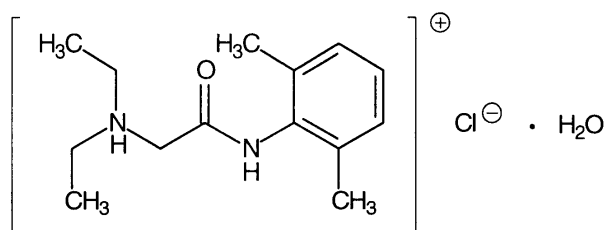
112. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Lidocaini hydrochloridum zní:

”

## † Lidocaini hydrochloridum monohydricum

Monohydrát lidokainiumchloridu

*Synonymum.* Lidocaini hydrochloridum



$C_{14}H_{23}ClN_2O \cdot H_2O$

$M_r$  288,82  
 $M_r$  bezvodého 270,80

CAS 6108-05-0

Je to monohydrát (2,6-dimethylbenzamidomethyl)diethylamoniumchloridu<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{14}H_{23}ClN_2O$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a F.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D, E a F, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Teplota tání (2.2.14). 74 °C až 79 °C, stanoví se bez předchozího vysušení.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru monohydrátu lidokainiumchloridu CRL.
- C. 0,2 g se rozpustí v 10 ml vody R a přidá se 10 ml trinitrofenolu RS. Vzniklá sraženina se promyje vodou R a usuší se; taje při asi 230 °C (2.2.14).
- D. K asi 5 mg se přidá 0,5 ml kyseliny dusičné dýmavé R, odpaří se do sucha na vodní lázni, zbytek se ochladí a rozpustí v 5 ml acetonu R. Přidá se 0,2 ml hydroxidu draselného v lihu RS; vznikne zelené zbarvení.
- E. K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 5 ml vody R, zalkalizuje se hydroxidem sodným zředěným RS a vzniklá sraženina se na filtru promyje vodou R. Polovina sraženiny se rozpustí v 1 ml lihu 96% R a přidá se 0,5 ml roztoku dusičnanu kobaltnatého R (100 g/l); vznikne modrozelená sraženina.
- F. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

<sup>1)</sup> monohydrát (2,6-dimethylbenzamidomethyl)diethylamonium-chloridu

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 20 ml.

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

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,0 až 5,5; měří se roztok připravený zředěním 1 ml roztoku S *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 10 ml.

### Nečistota A.

**Roztok (a).** 0,25 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. Tento roztok se použije k přípravě zkoušeného roztoku.

**Roztok (b).** 50 mg 2,6-dimethylanilinu *R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100 ml. Tento roztok se použije k přípravě porovnávacího roztoku.

Použijí se tři zkumavky s plochým dnem. Do první se odměří 2 ml roztoku (a), do druhé 1 ml roztoku (b) a 1 ml *methanolu R* a do třetí 2 ml *methanolu R* (slepá zkouška). Do každé zkumavky se přidá po 1 ml čerstvě připraveného roztoku *dimethylaminobenzaldehydu R* (10 g/l) v *methanolu R* a 2 ml *kyseliny octové ledové R* a nechá se stát 10 min při pokojové teplotě. Intenzita žlutého zbarvení zkoušeného roztoku je mezi intenzitou zbarvení roztoku získaného při slepé zkoušce a intenzitou zbarvení porovnávacího roztoku (100 µg/g).

**Těžké kovy** (2.4.8). 1,0 g se rozpustí ve *vodě R*, zředí se jí na 25 ml a provede se předfiltrace. 10 ml předfiltrátu vyhovuje limitní zkoušce E na těžké kovy (5 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku *olova* (1 µg Pb/ml).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 5,5 % až 7,0 %; stanoví se s 0,250 g zkoušené látky.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

0,220 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*. Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

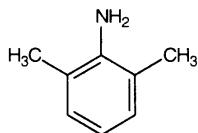
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 27,08 mg sloučeniny C<sub>14</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>2</sub>O.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.

## Nečistoty



A. 2,6-dimethylanilin.

113. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Lisinoprilum dihydricum zní:

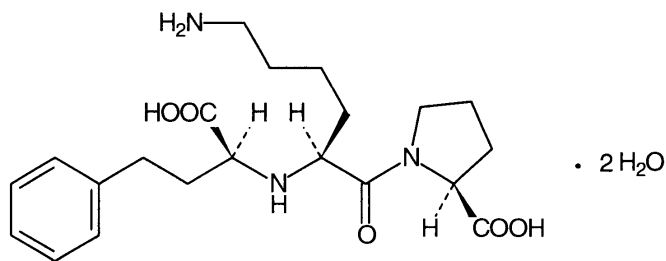
”

## Lisinoprilum dihydricum

Dihydrát lisinoprilu



2001



$C_{21}H_{31}N_3O_5 \cdot 2H_2O$

$M_r$  441,52  
 $M_r$  bezvodého 405,49

CAS 83915-83-7

Je to dihydrát  $\{N^2-[(1S)-3\text{-fenyl-1-karboxypropyl}]-L\text{-lysyl}]-L\text{-prolinu}^1\}$ . Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{21}H_{31}N_3O_5$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v acetonu a v ethanolu.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru 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 fázi 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*,

<sup>1)</sup> dihydrát  $\{N^2-[(1S)-3\text{-fenyl-1-karboxypropyl}]-L\text{-lysyl}]-L\text{-prolinu}$

- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,8 ml/min:

- *mobilní fáze A* - směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (3,12 g/l), jehož pH se upraví na hodnotu 5,0 roztokem *hydroxidu sodného R* (50 g/l), (30 + 970),
- *mobilní fáze B* - směs 200 ml *acetonitrilu R* a 800 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (3,12 g/l) jehož pH se upraví na hodnotu 5,0 roztokem *hydroxidu sodného R* (50 g/l),

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 35	100 → 70	0 → 30	lineární gradient izokraticky nastavení na počáteční podmínky začátek dalšího gradientu
35 - 45	70	30	
45 - 50	70 → 100	30 → 0	
50 = 0	100	0	

- 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 detektoru 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 odpovídá vzorovému chromatogramu dodanému 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 nad základní linií oddělujících tyto píky od píku lisinoprilu (*B1* a *B2*). Zkoušku lze hodnotit, jestliže hodnota *A1* je větší než devítinásobek hodnoty *B1* a hodnota *A2* je větší než devítinásobek hodnoty *B2*.

Je-li třeba, upraví se pH mobilní fáze na hodnotu 4,5 *kyselinou fosforečnou R* a záznam chromatogramu 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 po 20 µl zkoušeného roztoku a 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 polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píku rozpouštědla, k píkům eluovaným 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.

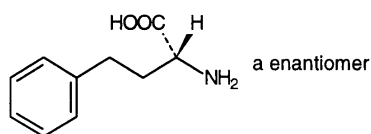
**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

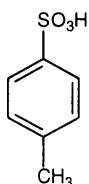
0,350 g se rozpustí v 50 ml *vody destilované R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 40,55 mg  $C_{21}H_{31}N_3O_5$ .

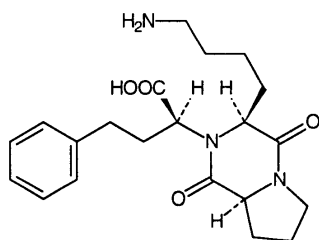
## Nečistoty



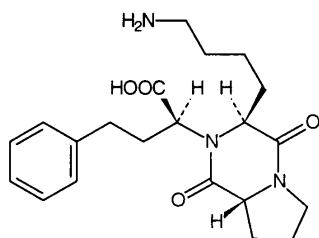
A. kyselina (*RS*)-2-amino-4-fenylbutanová,



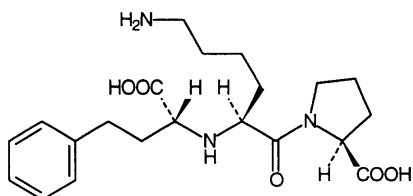
B. kyselina 4-toluensulfonová<sup>2)</sup>,



C. kyselina (*S*)-2-[(*3S,8aS*)-3-(4-aminobutyl)-1,4-dioxo-1,2,3,4,6,7,8,8a-oktahydropyrrolo[1,2-*a*]piperazin-2-yl]-4-fenylbutanová ((*S,S,S*)-diketopiperazin),



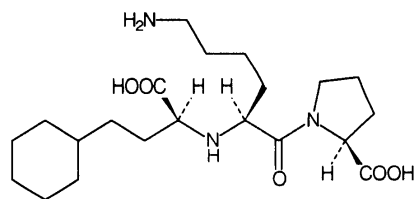
D. kyselina (*S*)-2-[(*3S,8aR*)-3-(4-aminobutyl)-1,4-dioxo-1,2,3,4,6,7,8,8a-oktahydropyrrolo[1,2-*a*]piperazin-2-yl]-4-fenylbutanová ((*R,S,S*)-diketopiperazin),



E. { $N^2$ -[(*1R*)-3-fenyl-1-karboxypropyl]-L-lysyl}-L-prolin<sup>3)</sup> ((*R,S,S*)-izomer lisinoprilu),

<sup>2)</sup> kyselina 4-methylbenzen-1-sulfonová

<sup>3)</sup> { $N^2$ -[(*1R*)-3-fenyl-1-karboxypropyl]-L-lysyl}-L-prolin



F. {N<sup>2</sup>-[(1S)-3-cyklohexyl-1-karboxypropyl]-L-lysyl}-L-prolin<sup>4)</sup> (cyklohexylový analog).

“

114. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Lorazepamum doplňuje článek Lovastatinum, který zní:

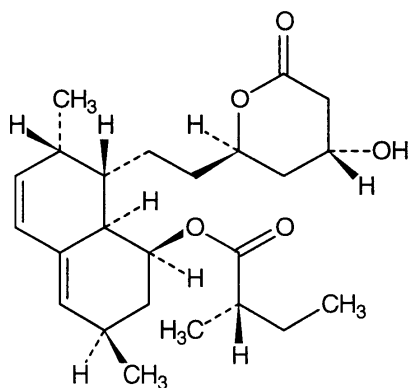
”

## † Lovastatinum

Lovastatin



2001



C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub>

M<sub>r</sub> 404,55

CAS 75330-75-5

Je to [(1S,3R,7S,8S,8aR)-8-{2-[(2R,4R)-4-hydroxy-6-oxotetrahydropyran-2-yl]ethyl}-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydro-1-naftyl]-(-S)-2-methylbutanoat<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>24</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub>.

<sup>4)</sup> {N<sup>2</sup>-[(1S)-3-cyklohexyl-1-karboxypropyl]-L-lysyl}-L-prolin

<sup>1)</sup> [(1S,3R,7S,8S,8aR)-8-{2-[(2R,4R)-4-hydroxy-6-oxotetrahydropyran-2-yl]ethyl}-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydro-1-naftyl]-(-S)-2-methylbutanoát



## Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu, mírně rozpustný v ethanolu.

## Zkoušky totožnosti

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *lovastatinu CRL*.

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,200 g se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 20,0 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $H_6$  nebo  $H\check{Z}_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $+325^\circ$  až  $+340^\circ$ , počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,125 g v *acetonitrilu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejmeně 20 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek relativní retenční čas nečistoty A je asi 0,8; nečistoty B je asi 0,6; nečistoty C je asi 1,2; nečistoty D je asi 2,3 (retenční čas *lovastatinu* je asi 7 min). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 0,6násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %).

**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*).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně 3 h za vysokého vakua při 60 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok (a).** 20,0 mg se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 10,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonitrem R* na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10,0 mg *lovastatinu CRL* se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonitrem R* na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** K 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 1 mg *simvastatinu CRL* a zředí se *acetonitrem 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 oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min:
  - mobilní fáze A - *acetonitril R*,
  - mobilní fáze B - roztok *kyseliny fosforečné R* 0,1 % (V/V),

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 5	60	40	izokraticky
5 - 7	60 → 65	40 → 35	lineární gradient
7 - 13	65 → 90	35 → 10	lineární gradient
13 - 15	90	10	izokraticky
15 - 17	90 → 60	10 → 40	lineární gradient
17 - 20	60	40	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 238 nm.

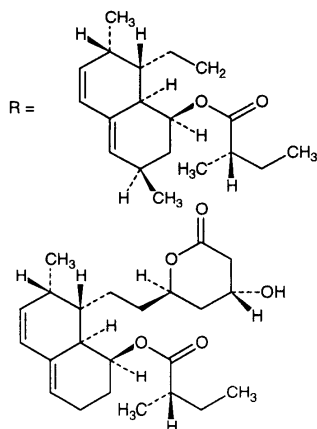
Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu je rozlišení mezi píky simvastatinu a lovastatinu nejméně 5,0. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je relativní retenční čas simvastatinu asi 1,1 (retenční čas lovastatinu je asi 7 min). Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (a) a citlivost se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 10 µl zkoušeného roztoku (b).

Obsah  $C_{24}H_{36}O_5$  se vypočte z ploch píků na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (a) a z deklarovaného obsahu  $C_{24}H_{36}O_5$  v lovastatinu CRL.

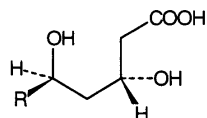
### Uchovávání

Uchovává se pod dusíkem při teplotě 2 °C až 8 °C.  
Separandum.

### Nečistoty

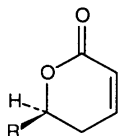


A. [(1*S*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydropyran-2-yl]ethyl}-7-methyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydro-1-nafthyl]-(*S*)-2-methylbutanoat<sup>2)</sup> (mevastatin),

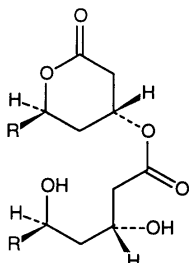


B. kyselina (3*R*,5*R*)-7-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8*aR*)-2,6-dimethyl-8-[[(*S*)-2-methylbutanoyl]oxy]-1,2,6,7,8,8*a*-hexahydro-1-nafthyl]-3,5-dihydroxyheptanová (hydroxykyselina lovastatinu),

<sup>2)</sup> [(1*S*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydropyran-2-yl]ethyl}-7-methyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydro-1-nafthyl]-(*S*)-2-methylbutanoát



- C. [(1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-3,7-dimethyl-8-{2-[(2*R*)-6-oxo-3,6-dihydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl}-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydro-1-naftyl)-(S)-2-methylbutanoat<sup>3)</sup> (dehydrolovastatin),



- D. (2*R*,4*R*)-2-{2-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8*aR*)-2,6-dimethyl-8-[[*S*]-2-methylbutanoyl]oxy]-1,2,6,7,8,8*a*-hexahydro-1-naftyl]ethyl}-6-oxotetrahydropyran-4-yl-[(3*R*,5*R*)-7-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8*aR*)-2,6-dimethyl-8-[[*S*]-2-methylbutanoyl]oxy]-1,2,6,7,8,8*a*-hexahydro-1-naftyl]-3,5-dihydroxyheptanoat<sup>4)</sup> (dimer lovastatinu).

“

115. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Lysini hydrochloridum doplňuje článek *Lythri herba*, který zní:

”

## Lythri herba

Kypřejová nat'

*Synonymum.* Herba lythri salicariae



2001

Je to celý nebo řezaný usušený kvetoucí vrcholek druhu *Lythrum salicaria* L. Obsahuje nejméně 5,0 % tříslovin, vyjádřeno jako pyrogalol (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.

<sup>3)</sup> [(1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-3,7-dimethyl-8-{2-[(2*R*)-6-oxo-3,6-dihydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl}-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydro-1-naftyl)-(S)-2-methylbutanoát

<sup>4)</sup> (2*R*,4*R*)-2-{2-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8*aR*)-2,6-dimethyl-8-[[*S*]-2-methylbutanoyl]oxy]-1,2,6,7,8,8*a*-hexahydro-1-naftyl]ethyl}-6-oxotetrahydropyran-4-yl-[(3*R*,5*R*)-7-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8*aR*)-2,6-dimethyl-8-[[*S*]-2-methylbutanoyl]oxy]-1,2,6,7,8,8*a*-hexahydro-1-naftyl]-3,5-dihydroxyheptanoát

## Zkoušky totožnosti

- A.** Lodyha tuhá, čtyřhranná, v horní části větvená, hnědozelená, podélně rýhovaná, pýřitá. Listy vstřícné, křížmostojné, zřídka v přeslenu po třech, květenství (svazečky) v úžlabí vstřícných listenů tvoří koncový klas. Listy jsou přisedlé, kopinaté, na bázi srdčité, 5 cm až 15 cm dlouhé a 1 cm až 2,5 cm široké, naspodu pýřité; sousední žilky anastomozují u okraje čepele. Kalich (češule) trubkovitý, vytrvalý, chlupatý, 4 mm až 8 mm dlouhý, šest široce trojúhelníkových lístků kališních se střídá se šesti šídlovitými přívěsky, které jsou dvakrát delší než kališní lístky. Koruna šestičetná, korunní lístky fialově růžové, úzce kopisťovité. Tyčinek dvanáct ve dvou kruzích po šesti (tyčinky nestejně dlouhé, jeden kruh tyčinek je ukryt v květu, druhý je delší a z koruny vyniká). Plody, jsou-li v droze přítomné, jsou malé tobolky uzavřené ve vytrvalém kalichu (češuli).
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je zelenožlutý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: jednobuněčné nebo dvoubuněčné, jednořadé krycí chlupy dolní části lodyhy a spodní strany listů, z buněk se stěnami ztlustlými, jemně tečkovanými; četné jednobuněčné nebo dvoubuněčné, jednořadé krycí chlupy kalichu (češule), z tenkostěnných, jemně tečkovaných buněk; průhledné růžově fialové úlomky korunních lístků; četné drúzy šťavelanu vápenatého; pylová zrna se třemi klíčovými póry a tenkou jemně zrnitou exinou; úlomky pokožky svrchní strany listů s velkými mnohohrannými buňkami se stěnami vlnitě zprohýbanými; úlomky pokožky spodní strany listů s menšími mnohohrannými buňkami a anomocytickými průduchy (2.8.3).
- C.** 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 10 ml *methanolu R* a zahřívá se 5 min ve vodní lázni při 65 °C za častého protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje. Filtrát se zředí *methanolem R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 0,5 mg *kyseliny chlorogenové R*, 1 mg *hyperosidu R*, 1 mg *rutinu R* a 1 mg *vitexinu R* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů po 10 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R*, *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *vody R* a *ethylacetátu R* (7,5 + 7,5 + 18 + 67) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší při 100 °C až 105 °C a 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* a nechá se uschnout volně na vzduchu. Po asi 30 min se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině žlutohnědě fluoreskující skvrna (rutin), ve střední třetině světle modře fluoreskující skvrna (kyselina chlorogenová) a nad ní žlutohnědě fluoreskující skvrna (hyperosid) a zeleně fluoreskující skvrna (vitexin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je světle zeleně fluoreskující skvrna, v poloze vyšší než je skvrna odpovídající rutině na chromatogramu porovnávacího roztoku, žlutě fluoreskující skvrna odpovídající polohou skvrně kyseliny chlorogenové na chromatogramu porovnávacího roztoku, žlutě fluoreskující skvrna odpovídající polohou skvrně hyperosidu na chromatogramu porovnávacího roztoku a světle zeleně fluoreskující skvrna odpovídající polohou skvrně vitexinu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

## Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi** (2.8.2). Vyhovuje požadavkům zkoušky Cizí příměsi.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 1,000 g práškované drogy (355) se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel** (2.4.16). Nejvýše 7,0 %.

## Stanovení obsahu

Provede se Stanovení tríslovin v rostlinných drogách (2.8.14) s 0,750 g práškované drogy (180).

## Uchovávání

Chráněna před světlem.

116. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Macrogola zní:

”

## Macrogola

Makrogoly



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  $H_2O_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Kyselý 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 hodnotou hustoty uvedenou v tabulce 1.

Tab. 1

Typ makrogolu	Kinematická viskozita ( $mm^2 s^{-1}$ )	Dynamická viskozita (mPa.s)	Hustota ( $g/cm^3$ )
300	71 až 94	80 až 105	1,120
400	94 až 116	105 až 130	1,120
600	13,9 až 18,5	15 až 20	1,080
1000	20,4 až 27,7	22 až 30	1,080
1500	31 až 46	34 až 50	1,080
3000	69 až 93	75 až 100	1,080
3350	76 až 110	83 až 120	1,080
4000	102 až 158	110 až 170	1,080
6000	185 až 250	200 až 270	1,080
8000	240 až 472	260 až 510	1,080
20 000	2500 až 3200	2700 až 3500	1,080
35 000	10 000 až 13 000	11 000 až 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)
600	15 až 25
1000	35 až 40
1500	42 až 48
3000	50 až 56
3350	53 až 57
4000	53 až 59
6000	55 až 61
8000	55 až 62
20 000	nejméně 57
35 000	nejméně 57

**Hydroxylové číslo.** Do suché kuželové baňky opatřené zpětným chladičem se přeneše 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 *fenolftaleinu 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 až 394	1,5
400	264 až 300	1,9
600	178 až 197	3,5
1000	107 až 118	5,0
1500	70 až 80	7,0
3000	34 až 42	12,0
3350	30 až 38	12,0
4000	25 až 32	14,0
6000	16 až 22	18,0
8000	12 až 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 ve vodě s ledem 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 ve vodě s ledem 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 ve vodě s ledem 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 nepřevyšší 170 °C. Proveďte se pět opakovaných nástřiků, aby se ověřila reprodukovatelnost odezvy.

Změří se plochy píků odpovídajících ethylenglykolu a diethylenglykolu na chromatogramech zkoušeného roztoku 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 2,0 % pro makrogoly, jejichž jmenovitá molekulová hmotnost je nejvýše 1000 a nejvýše 1,0 % pro makrogoly, jejichž jmenovitá molekulová hmotnost je více než 1000; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

**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.

117. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Macrogola doplňuje článek Magaldratum, který zní:

”

## Magaldratum

Magaldrat

 $\text{Al}_5\text{Mg}_{10}(\text{OH})_{31}(\text{SO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  bezvodého 1097,32

CAS 74978-16-8

Je to směs hydroxidů a síranů hlinitých a hořečnatých. Její složení přibližně odpovídá vzorci  $\text{Al}_5\text{Mg}_{10}(\text{OH})_{31}(\text{SO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ . Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 90,0 % až 105,0 % sloučeniny  $\text{Al}_5\text{Mg}_{10}(\text{OH})_{31}(\text{SO}_4)_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustný ve zředěných minerálních kyselinách.

### Zkoušky totožnosti

- A. 0,6 g se rozpustí ve 20 ml *kyseliny chlorovodíkové 3 mol/l RS*, přidá se asi 30 ml *vody R* a zahřeje se k varu. pH se upraví *amoniakem zředěným RS1* na hodnotu 6,2, vaří se další 2 min a zfiltruje se. Sraženina i filtrát se uchovávají. Ke 2 ml filtrátu se přidají 2 ml *chloridu amonného RS* a zneutralizuje se roztokem připraveným rozpuštěním 2 g *uhlíkatu amonného R* a 2 ml *amoniaku zředěného RS1* ve 20 ml *vody R*; nevzniká sraženina. Přidá se *hydrogenfosforečnan sodný RS*; vznikne bílá krystalická sraženina, která se nerozpouští v *amoniaku zředěném RS1*.
- B. Sraženina získaná ve zkoušce totožnosti A vyhovuje zkoušce na hliník (2.3.1).
- C. Filtrát získaný ve zkoušce totožnosti A vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Rozpustné chloridy.** 1 g se disperguje v 50 ml *vody R*, 5 min se vaří, po ochlazení se doplní na 50,0 ml, promíchá se a zfiltruje. Ke 25,0 ml filtrátu se přidá 0,2 ml *chromanu draselného RS* a titruje se *dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS* do trvale fialově červeného zbarvení. Spotřebuje se nejvýše 5,0 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* (3,5 %).

**Rozpustné sírany.** Ke 2,5 ml filtrátu získaného ve zkoušce Rozpustné chloridy se přidá 30 ml *vody R*, zneutralizuje se *kyselinou chlorovodíkovou R* na *papír lakmusový modrý R*, přidají se 3 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS*, 3 ml roztoku *chloridu barnatého R* (120 g/l) a zředí se *vodou R* na 50 ml. Promíchá se a nechá se 10 min stát; opalescence takto připraveného roztoku není intenzivnější než opalescence porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 1 ml *kyseliny sírové 0,01 mol/l RS* místo 2,5 ml filtrátu (1,9 %).

**Sírany.** 16,0 % až 21,0 %, počítáno na vysušenou látku. Připraví se chromatografický sloupec o vnitřním průměru 1 cm, obsahující 15 ml *katexu R* (150 μm až 300 μm) předem promytého 30 ml *vody R*. 0,875 g se rozpustí ve směsi 5 ml *kyseliny octové ledové R* a 10 ml *vody R* a zředí se *vodou R* na 25 ml. 5 ml tohoto roztoku se přenesou na sloupec a eluuje se 15 ml *vody R*. K eluátu se přidá 5 ml roztoku *octanu hořečnatého R* (536 g/l), 32 ml *methanolu R* a 0,2 ml *alizarinu S RS*. Potom se přidá z byrety asi 5,0 ml *chloridu barnatého 0,05 mol/l VS*, dalších 0,2 ml *alizarinu S RS* a pomalu se pokračuje v titraci do zmizení žlutého zbarvení a vzniku fialově červeného odstínu.

1 ml *chloridu barnatého 0,05 mol/l VS* odpovídá 4,803 mg  $\text{SO}_4$ .

**Hydroxid hlinitý.** 32,1 % až 45,9 %, počítáno na vysušenou látku. 0,800 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS1* a zahřeje se na vodní lázni. Po ochlazení se zředí *vodou R* na 50,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidává



*amoniak zředěný RS1* do vzniku sraženiny. Potom se přidá co nejmenší množství *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* právě potřebné k rozpuštění vzniklé sraženiny, zředí se *vodou R* na 20 ml a provede se chelatometrická titrace hliníku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 7,80 mg  $\text{Al(OH)}_3$ .

**Hydroxid hořečnatý.** 49,2 % až 66,6 %, počítáno na vysušenou látku. 0,100 g se rozpustí ve 2 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a provede se chelatometrická titrace hořčíku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 5,832 mg  $\text{Mg(OH)}_2$ .

**Sodík.** Nejvýše 0,10 %; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 2,00 g se naváží do 100ml odměrné baňky umístěné ve vodě s ledem, přidá se 5 ml *kyseliny dusičné R*, promíchá se, nechá se zahřát na pokojovou teplotu a zředí se *vodou R* na 100 ml. Je-li třeba, roztok se zfiltruje. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku *sodíku (200 μg Na/ml)* zředěním podle potřeby *kyselinou dusičnou zředěnou RS*.

Měří se absorbance při 589 nm za použití sodíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g se rozpustí ve 30 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS1* a protřepává se 2 min s 50 ml *isobutylmethylketonu R*. Nechá se stát, vodní vrstva se oddělí a odpaří se do sucha. Zbytek se rozpustí ve 30 ml *vody R*. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (30 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (2 μg Pb/ml)*.

**Ztráta sušením (2.2.32).** 10,0 % až 20,0 %; 1,000 g se suší 4 h v sušárně při 200 °C.

### Stanovení obsahu

K 1,500 g se přidá 50,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS*. Nadbytek kyseliny chlorovodíkové se titruje *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* do hodnoty pH 3,0 za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Současně se provede slepá zkouška.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* odpovídá 35,40 mg  $\text{Al}_5\text{Mg}_{10}(\text{OH})_{31}(\text{SO}_4)_2$ .

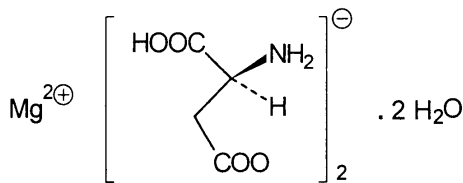
118. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Magnesii hydrogenoaspartas dihydricus zní:

”

## Magnesii hydrogenoaspartas dihydricus

Dihydrát magnesiumhydrogenaspartatu

*Synonymum.* Magnesii aspartas dihydricus



$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{MgN}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  324,53  
 $M_r$  bezvodého 288,50

Je to magnesium-bis[hydrogen-(*S*)-2-aminobutandioát]<sup>1)</sup>. 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.

<sup>1)</sup> magnesium-bis[hydrogen-(*S*)-2-aminobutandioát]

**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 roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (515 g/l) 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 při 100 °C až 105 °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  $\mu$ g/g).

**Sířany** (2.4.13). 12 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sířany (500  $\mu$ g/g). Zkouška se hodnotí po 30 min.

**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200  $\mu$ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 0,1 ml základního roztoku *amonie* (100  $\mu$ g  $\text{NH}_4/\text{ml}$ ).

**Železo** (2.4.9). 0,20 g se v dělicí nálevce rozpustí v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, třikrát se 3 min třepe vždy s 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 (50  $\mu$ 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  $\mu$ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok *olova* (1  $\mu$ g  $\text{Pb}/\text{ml}$ ).

**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 °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

V dobře uzavřených obalech.

## Nečistoty

A. kyselina (S)-2-aminobutandiová (kyselina L-asparagová).

119. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Magnesii lactas dihydricus doplňuje článek Magnesii peroxidum, který zní:

”

## Magnesii peroxidum

Peroxid hořečnatý



2001

CAS 1335-26-8

Je to směs peroxidu hořečnatého a oxidu hořečnatého. Obsahuje 22,0 % až 28,0 % sloučeniny  $MgO_2$  ( $M_r$  56,30).

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě žlutý amorfni lehký prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách.

### Zkoušky totožnosti

- A.** Asi 15 mg se rozpustí ve 2 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a neutralizuje se *hydroxidem sodným zředěným RS*; roztok vyhovuje zkoušce na hořčík (2.3.1).
- B.** 0,1 g se rozpustí ve 2 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se třepe s 5 ml *etheru R* a 0,5 ml *dichromanu draselného RS1*; etherová vrstva se zbarví modře.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S1.** 5,0 g se opatrně rozpustí ve 40 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*. Roztok se opatrně odpaří až na objem 10 ml a zředí se směsí stejných objemových dílů *kyseliny octové RS* a *vody destilované R* na 100 ml. Je-li třeba, roztok se zfiltruje přes předem vyžíhaný a zvážený porcelánový nebo křemenný filtrační kelímek takové porozity, aby se získal čirý filtrát. Zbytek se uchová pro zkoušku Látky nerozpustné v kyselině.

**Roztok S2.** 5 ml roztoku S1 se zředí *vodou destilovanou R* na 25 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S1 není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $H_4$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Látky nerozpustné v kyselině.** Zbytek získaný při přípravě roztoku S1 se promyje, usuší a vyžihá při 600 °C; váží nejvýše 5 mg (0,1 %).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 2,0 g se přidá 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, 5 min se zahřívá k varu a horký roztok se přefiltruje přes filtr ze slinutého skla (40). Po ochlazení se filtrát zředí *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 100 ml. K 15 ml filtrátu se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; roztok se zbarví červeně. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*. Filtrát se uchová pro zkoušku Rozpustné látky.

**Rozpustné látky.** 50 ml filtrátu získaného ve zkoušce Kysele nebo zásaditě reagující látky se odpaří do sucha a vysuší se při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 15 mg (1,5 %).

**Chloridy (2.4.4).** 50 mg se rozpustí v 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,1 %).

**Sírany (2.4.13).** 3 ml roztoku S2 se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,5 %).

**Arsen (2.4.2).** 5 ml roztoku S1 vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (4 µg/g).

**Vápník (2.4.3).** 1 ml roztoku S2 se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na vápník (1,0 %).

**Železo (2.4.9).** 2 ml roztoku S2 se zředí vodou R na 10 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (500 µg/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** K 20 ml roztoku S1 se přidá 15 ml kyseliny chlorovodíkové RS, 2 min se třepe s 25 ml *isobutylmethylketonu R* a nechá se stát. Vodná fáze se oddělí a odpaří se do sucha. Zbytek se rozpustí v 1,5 ml kyseliny octové R a zředí se vodou R na 30 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (30 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (1 µg Pb/ml).

#### Stanovení obsahu

80,0 mg se opatrným třepáním rozpustí v předem na 20 °C ochlazené směsi 10 ml kyseliny sírové R a 90 ml vody R a titruje se manganistanem draselným 0,02 mol/l VS do růžového zbarvení.

1 ml manganistanu draselného 0,02 mol/l VS odpovídá 2,815 mg MgO<sub>2</sub>.

#### Uchovávání

Chráněn před světlem.

“

120. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Magnesii sulfas zní:

”

### Magnesii sulfas heptahydricus<sup>1)</sup>

Heptahydrát síranu hořečnatého

*Synonymum.* Magnesium sulfuricum



2001

MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 246,47

CAS 10034-99-8

M<sub>r</sub> bezvodého 120,36

Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny MgSO<sub>4</sub>.

#### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo lesklé bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný ve vroucí vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

#### Zkoušky totožnosti

A. Vyhovuje zkouškám na sírany (2.3.1).

B. Vyhovuje zkoušce na hořčík (2.3.1).

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 3, 426 (2000). Závazné od 1. 9. 2000.

**Zkoušky na čistotu**

**Roztok S.** 5,0 g se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 50 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 červeně fenolové *RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l *VS* nebo hydroxidu sodného 0,01 mol/l *VS*.

**Chloridy (2.4.4).** 1,7 ml roztoku *S* zředěného vodou *R* na 15 ml vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (300 µg/g).

**Arsen (2.4.2).** 0,5 g vyhovuje limitní zkoušce *A* na arsen (2 µg/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** 12 ml roztoku *S* vyhovuje limitní zkoušce *A* na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (1 µg *Pb/ml*).

**Železo (2.4.9).** 5 ml roztoku *S* zředěného vodou *R* na 10 ml vyhovuje limitní zkoušce na železo (20 µg/g).

**Ztráta sušením (2.2.32).** 48,0 % až 52,0 %; 0,500 g se suší v sušárně 1 h při 110 °C až 120 °C a pak při 400 °C do konstantní hmotnosti.

**Stanovení obsahu**

0,450 g se rozpustí ve 100 ml vody *R* a provede se chelatometrická titrace hořčičku (2.5.11).

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l *VS* odpovídá 12,04 mg  $MgSO_4$ .

“

121. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Maltitolum a Maltitolum liquidum znějí:

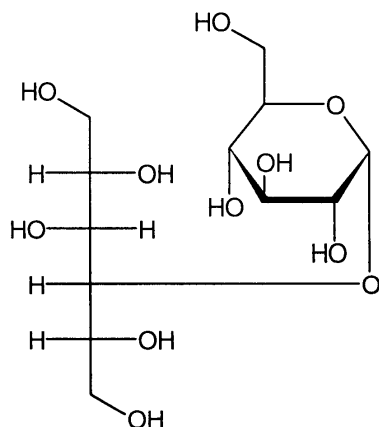
”

**Maltitolum**

Maltitol



2001

 $C_{12}H_{24}O_{11}$  $M_r$  344,32

CAS 585-88-6

Je to 4-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-glucitol<sup>1)</sup> (D-maltitol). Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub>.

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v ethanolu.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *maltitolu CRL*.

**B.** Teplota tání (2.2.14). 148 °C až 151 °C.

**C.** Specifická optická otáčivost (2.2.7). +105,5° až +108,5°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 5,00 g ve *vodě R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

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

*Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25 mg *maltitolu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 25 mg *maltitolu CRL* a 25 mg *sorbitolu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2  $\mu$ l každého roztoku. Vytvoří se směs objemových dílů *vody R*, *ethylacetatu R* a *1-propanolu R* (10 + 20 + 70) po dráze 17 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se *kyselinou 4-aminobenzoovou RS*. Suší se v proudu studeného vzduchu do vymizení pachu acetonu a pak se 15 min zahřívá při 100 °C až 105 °C. Po ochlazení se postříká roztokem *jodistanu sodného R* (2 g/l), usuší se v proudu studeného vzduchu a 15 min se zahřívá při 100 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrny na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 5,0 g se rozpustí se ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Měrná vodivost** (2.2.38). Nejvýše 20  $\mu$ S.cm<sup>-1</sup>. 20,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R*, připravené z *vody destilované R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. Vodivost tohoto roztoku se měří za mírného míchání magnetickým míchadlem při teplotě 20 °C.

**Redukující cukry.** 5,0 g se rozpustí mírným zahřátím v 6 ml *vody R*. Po ochlazení se přidá 20 ml *citronanu měďnatého RS* a několik skleněných kuliček. Zahřívá se tak, aby k varu došlo za 4 min a nechá se 3 min vařit. Rychle se ochladí a přidá se 100 ml roztoku *kyseliny octové ledové R* 2,4% (V/V) a 20,0 ml *jodu 0,025 mol/l VS*. Za stálého míchání se přidá 25 ml směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *vody R* (6 + 94) a po rozpuštění sraženiny se přebytek jodu titruje *thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru, který se přidá před koncem titrace. Spotřebuje se nejvýše 12,8 ml *thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS* (0,2 %, počítáno jako glukosový ekvivalent).

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem uvedeným v odstavci Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku *maltitolu* na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času *maltitolu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %). Nepřehlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %).

<sup>1)</sup> 4-O- $\alpha$ -D-glukopyranosyl-D-glucitol

**Olovo** (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5 µg/g).

**Nikl** (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce na nikl v polyolech (1 µg/g).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Mikrobiální znečištění**. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků, celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše  $10^2$  bakterií a nejvýše  $10^2$  hub v gramu, stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

**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 4 m.j. endotoxinu v gramu pro parenterální přípravky, obsahující méně než 100 g/l maltitolu,
- nejvýše 2,5 m.j. endotoxinu v gramu pro parenterální přípravky, obsahující 100 g/l nebo více maltitolu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok*. 5,0 g se rozpustí ve 20 ml vody R a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a)*. 0,5 g maltitolu CRL se rozpustí ve 2,0 ml vody R a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (b)*. 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c)*. 10,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí vodou R na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d)*. 0,5 g maltitolu CRL a 0,5 g sorbitolu CRL se rozpustí v 5 ml vody R a zředí se jí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné katexem silně kyselým (vápníková forma) R (9 µm), udržované při teplotě (85 ± 1) °C,
- mobilní fáze, kterou je odplyněná voda R. Průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného při konstantní teplotě.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (d) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času maltitolu.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas maltitolu asi 16 min a relativní retenční časy vzhledem k maltitolu jsou: sorbitolu asi 1,8 a maltotriitolu asi 0,8. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky maltitolu a sorbitolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je nejméně 2.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času maltitolu.

Z ploch píků a deklarovaného obsahu maltitolu CRL se vypočítá obsah  $C_{12}H_{24}O_{11}$  (D-maltitol) v procentech.

## Označování

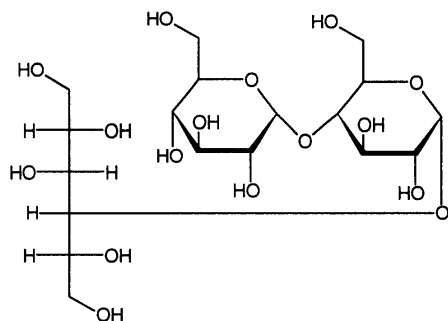
V označení na obalu se uvede:

- kde je to vhodné, nejvyšší koncentrace bakteriálních endotoxinů,
- kde je to vhodné, zda je látka vhodná k výrobě parenterálních lékových forem.

## Nečistoty

A. D-glucitol (sorbitol),





B. 4-O-[α-D-glukopyranosyl-(1→4)-α-D-glukopyranosyl]-D-glucitol<sup>2)</sup> (maltotriitol).

## Maltitolum liquidum

Roztok maltitolu



2001

Je to vodný roztok hydrogenovaného, částečně hydrolyzovaného škrobu. Obsahuje 68,0 % až 85,0 % bezvodé látky, složené ze směsi převážně 4-O-α-D-glukopyranosyl-D-glucitolu<sup>1)</sup> (D-maltitolu) s D-glucitolem (D-sorbitolem) a hydrogenovanými oligosacharidy a polysacharidy. Obsahuje nejméně 50,0 % D-maltitolu (C<sub>12</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub>) a nejvýše 8,0 % D-sorbitolu (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>), počítáno na bezvodé látky. Obsahuje 95,0 % až 105,0 % obsahu D-maltitolu uvedeného v označení na obalu.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá sirupovitá kapalina. Je mísitelný s vodou a s glycerolem.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz Obecné zásady (1.2).

**A.** Hodnotí se chromatogramy získané ze Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**B.** Ke 3 ml čerstvě připraveného roztoku *pyrokatecholu R* (100 g/l) se za chlazení ve vodě s ledem přidá 6 ml *kyseliny sírové R*. Ke 3 ml ochlazené směsi se přidá 0,3 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, a opatrně se 30 s zahřívá nad otevřeným plamenem; vzniká růžové zbarvení.

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

*Zkoušený roztok.* 0,35 g se zředí *vodou R* na 100 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 20 mg *maltitolu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 20 mg *maltitolu CRL* a 20 mg *sorbitolu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *ethylacetatu R* a *1-propanolu R* (10 + 20 + 70) po dráze 17 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se *kyselinou 4-aminobenzoovou RS*. Suší se v proudu studeného vzduchu do vymizení pachu acetonu a pak se 15 min zahřívá při 100 °C až 105 °C. Po ochlazení se postříká roztokem *jodistanu sodného R* (2 g/l), usuší se v proudu studeného vzduchu a 15 min se zahřívá při 100 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením

<sup>2)</sup> 4-O-[α-D-glukopyranosyl-(1→4)-α-D-glukopyranosyl]-D-glucitol

<sup>1)</sup> 4-O-α-D-glukopyranosyl-D-glucitolu

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.** 7,0 g se zředí vodou R na 50 ml.

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

**Měrná vodivost** (2.2.38). Nejvýše  $10 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ; měří se neředěný zkoušený přípravek za mírného míchání magnetickým míchadlem při teplotě 20 °C.

**Redukující cukry.** K 5,0 g se přidá 6 ml vody R, 20 ml citronanu měďnatého RS a několik skleněných kuliček. Zahřívá se tak, aby k varu došlo za 4 min a nechá se 3 min vařit. Rychle se ochladí a přidá se 100 ml roztoku kyseliny octové ledové R 2,4% (V/V) a 20,0 ml jodu 0,025 mol/l VS. Za stálého míchání se přidá 25 ml směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (6 + 94) a po rozpuštění sraženiny se titruje přebytek jodu thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS jako indikátoru, který se přidá před koncem titrace. Spotřebuje se nejvýše 12,8 ml thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS (0,2 %, počítáno jako glukosový ekvivalent).

**Olovo** (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5  $\mu\text{g/g}$ ).

**Nikl** (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce na nikl v polyolech (1  $\mu\text{g/g}$ ).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 15,0 % až 32,0 %; stanoví se s 0,100 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 1,00 g se smíchá s 20 ml vody R a zředí se jí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 50,0 mg maltitolu CRL se rozpustí ve 2 ml vody R a zředí se jí na 5,0 ml. **Porovnávací roztok (b).** 8,0 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve 2 ml vody R a zředí se jí na 5,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 50 mg maltitolu CRL a 50 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve 2 ml vody R a zředí se jí na 5,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné katexem silně kyselým (vápníková forma) R (9  $\mu\text{m}$ ), udržované při teplotě  $(85 \pm 2) ^\circ\text{C}$ ,
- mobilní fáze, kterou je odplyněná voda R; průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného při konstantní teplotě.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (c) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času maltitolu.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas maltitolu asi 16 min a relativní retenční čas sorbitolu vzhledem k maltitolu je asi 1,8. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky sorbitolu a maltitolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je nejméně 2.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a) a 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času maltitolu.

Z ploch píků a deklarovaného obsahu maltitolu CRL a sorbitolu CRL se vypočítá obsah  $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$  (D-maltitol) a  $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$  (D-sorbitol) v procentech.

### Označování

V označení na obalu se uvede obsah D-maltitolu.

122. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Maltitolum liquidum* doplňují články *Maltodextrinum*, *Malvae sylvestris flos* a *Mangani sulfas monohydricus*, které znějí:

”

## Maltodextrinum

Maltodextrin



2001

Je to směs glukosy, disacharidů a polysacharidů, získaná částečnou hydrolyzou škrobu. Stupeň hydrolyzy, vyjádřený jako glukosový ekvivalent (DE), je nejvýše 20 a neliší se o více než 2 DE jednotky od hodnoty uvedené v označení na obalu.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý slabě hygroskopický prášek nebo granule. Je snadno rozpustný ve vodě.

### Zkoušky totožnosti

- A. 0,1 g se rozpustí ve 2,5 ml vody R a zahřívá se s 2,5 ml *vinanu měďnatého RS*; vznikne červená sraženina.
- B. Vhodná tyčinka s reaktivní vložkou, obsahující glukosaoxidazu, peroxidazu a vodík poskytující látku, jako je tetramethylbenzidin, se ponoří na 1 s do roztoku zkoušené látky (5 g/l). Pozoruje se barva reaktivní vložky; do 60 s se žlutá barva změní na zelenou nebo modrou.
- C. Je to prášek nebo granule.
- D. Zkouška Glukosový ekvivalent, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** Rozpustí se 12,5 g ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 50,0 ml.

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,0 až 7,0; měří se směs 30 ml roztoku S a 1 ml roztoku *chloridu draselného R* (223,6 g/l).

**Oxid siřičitý** (2.5.29). Nejvýše 20 µg/g.

**Těžké kovy** (2.4.8). 4 ml roztoku S se zředí vodou R na 30 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce E na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 6,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Glukosový ekvivalent.** Přesně zvážené množství zkoušeného vzorku, odpovídající 2,85 g až 3,15 g redukujících cukrů, počítáno jako glukosový ekvivalent, se přesně naváží do 500ml odměrné baňky. Rozpustí se ve vodě R a zředí se jí na 500,0 ml. Roztok se převede do 50ml byrety. Do 250ml baňky se pipetuje 25,0 ml *vinanu měďnatého RS* a přidá se 18,5 ml roztoku vzorku z byrety, zamíchá se a přidají se varné kamínky. Baňka se umístí na horkou desku, předem připravenou tak, aby roztok začal vřít během 2 min ±15 s. Nechá se vřít přesně 120 s, přidá se 1 ml roztoku *modři methylenové R* (1 g/l) a titruje se roztokem vzorku ( $V_1$ ) do vymizení modrého zbarvení. Během titrace se roztok udržuje ve varu.

Roztok *vinanu měďnatého* se standardizuje pomocí roztoku *glukosy R* (6,00 g/l) ( $V_0$ ).

Glukosový ekvivalent (DE) se vypočítá ze vztahu:

$$DE = \frac{300 \cdot V_0 \cdot 100}{V_1 \cdot M \cdot D}$$

v němž značí:

$V_0$  - celkový objem standardního roztoku glukosy v mililitrech,

$V_1$  - celkový objem zkoušeného roztoku v mililitrech,

$M$  - hmotnost vzorku v gramech,

$D$  - procentuální obsah suché hmoty v látce.

**Mikrobiální znečištění.** Celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše  $10^3$  bakterií a nejvýše  $10^2$  plísni v gramu, stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

### Označování

V označení na obalu se uvede glukosový ekvivalent (DE).

## Malvae sylvestris flos

Květ slézu

*Synonyma.* Flos malvae sylvestris, Flos malvae



2001

Je to usušený květ druhu *Malva sylvestris* L. nebo jeho pěstovaných odrůd, celý nebo jeho úlomky.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

**A.** Podkvětní kalíšek trojlístý, listeny kalíšku podlouhlé nebo oválně vejčité, nesrostlé, kratší než lístky kalicha. Kalich pětičetný, trojúhelníkovité kališní ušty jsou v dolní části srostlé, na vnější straně hvězdovitě chlupaté. Pětičetná koruna je třikrát až čtyřikrát delší než kalich. Lístky korunní jsou hluboce vykrojené, na bázi klínovité, srostlé s tyčinkami. Četné tyčinky jednobratré, srostlé nitkami v trubku, nitky hvězdovitě chlupaté, příležitostně jsou jednotlivé chlupy viditelné pod lupou; četné plodolisty uzavřené v kruhu tyčinek jsou lysé nebo často pýřité, svrstělé, vyběhají v jednoduchou čnělku zakončenou četnými nitkovitými bliznami. U pěstovaných odrůd jsou kalíšek trojčetný až sedmičetný, kalich pětičetný až osmičetný a koruna pětičetná až desetičetná.

**B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je modrošedý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: jednobuněčné ztlustlé krycí chlupy až 2 mm dlouhé; malé jednobuněčné svazčité krycí chlupy, mírně zakřivené, buď jednotlivé, nebo v malých paprčičitě uspořádaných chomáčcích po dvou až šesti; žláznaté hlavičkovité chlupy s mnohobuněčnou hlavičkou; úlomky mezofylu s cévami provázenými drúzami šřavelanu vápenatého; kulovitá pylová zrna o průměru asi 150  $\mu\text{m}$  s hrubě ostnitou exinou.

Po navlhčení *lihem 96% R* jsou v úlomcích koruny patrné protáhlé buňky obsahující sliz.

**C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 1 g práškové drogy (355) se míchá 15 min s 10 ml *lihu R 60% (V/V)* a pak se zfiltruje.

*Porovnávací roztok.* Roztok *červeně chinaldinové R (0,5 g/l)* v *lihu 96% R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů 10  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 5  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku.

Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové R*, *vody R* a *1-butanolu R (15 + 30 + 60)* po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní části střední třetiny oranžově červená skvrna. Na chromatogramu zkoušeného roztoku, v poloze pod skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou ve střední třetině dvě fialové skvrny; hlavní skvrna (6''-maloylmalvin) je umístěna pod fialovou skvrnou (malvin).

**Zkoušky na čistotu**

**Cizí příměsi** (2.8.2). Vyhovuje požadavkům zkoušky Cizí příměsi.

**Číslo bobtnavosti** (2.8.4). Nejméně 15; stanoví se s 0,2 g práškované drogy (710) navlhčené 0,5 ml *ethanolu R*.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 1,000 g práškované drogy se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel** (2.4.16). Nejvýše 14,0 %.

Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové (2.8.1). Nejvýše 2,0 %.

**Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

---

**Mangani sulfas monohydricus**

Monohydrát síranu manganatého



2001

MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O

*M*<sub>r</sub> 169,01

CAS 10034-96-5

Počítáno na vyžíhanou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % MnSO<sub>4</sub>.

**Vlastnosti**

Světle růžový krystalický slabě hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

**Zkoušky totožnosti**

**A.** Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

**B.** 50 mg se rozpustí v 5 ml *vody R* a přidá se 0,5 ml *sulfidu amonného RS*, tvoří se světle růžová sraženina, která se rozpustí přidáním 1 ml *kyseliny octové bezvodé R*.

**C.** Zkouška Ztráta žiháním, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

**Zkoušky na čistotu**

**Roztok S.** 10,0 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 100 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje silněji než porovnávací suspenze II (2.2.1).

**Chloridy** (2.4.4). 5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 µg/g).

**Železo** (2.4.9). 10 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

**Zinek.** K 10 ml roztoku S se přidá 1 ml *kyseliny sírové R* a 0,1 ml *hexakvanoželeznatanu draselného RS*. Po 30 s opalescence tohoto roztoku není intenzivnější než opalescence směsi 5 ml základního roztoku *zinku* (10 µg Zn/ml), 5 ml *vody R*, 1 ml *kyseliny sírové R* a 0,1 ml *hexakvanoželeznatanu draselného RS* (50 µg/ml).

**Těžké kovy** (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok *olova* (2 µg Pb/ml).

**Ztráta žiháním.** 10,0 % až 12,0 %; stanoví se s 1,00 g při 500 °C.

**Stanovení obsahu**

0,150 g se rozpustí v 50 ml vody R. Přidá se 10 mg kyseliny askorbové R, 20 ml tlumivého roztoku s chloridem amonným o pH 10,0 a 0,2 ml roztoku černi eriochromové T R (2 g/l) v triethanolaminu R a titruje se edetanem disodným 0,1 mol/l VS do změny zbarvení z fialové na čistě modrou.

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS odpovídá 15,10 mg MnSO<sub>4</sub>.

“

123. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Mannitolum zní:

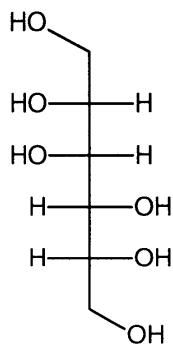
”

**Mannitolum**

Mannitol



2001

C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>M<sub>r</sub> 182,17

CAS 69-65-8

Je to D-mannitol. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>.

**Vlastnosti**

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo sypké granule. Je snadno rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Vykazuje polymorfismus.

**Zkoušky totožnosti**

Základní zkouška: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety mannitolu CRL. Pokud se získaná spektra liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka ve vodě R, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

**B.** Teplota tání (2.2.14). 165 °C až 170 °C.

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

*Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25 mg mannitolu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 25 mg mannitolu CRL a 25 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 µl každého roztoku. Vytvoří se směs objemových dílů vody R, ethylacetatu R a 1-propanolu R (10 + 20 + 70) po dráze 17 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se kyselinou 4-aminobenzoovou RS. Suší se v proudu studeného vzduchu do vymizení pachu acetonu a pak se 15 min zahřívá při 100 °C. Po ochlazení se postříká roztokem jodistanu sodného R (2 g/l), usuší se v proudu studeného vzduchu a 15 min se zahřívá při 100 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**D.** Specifická optická otáčivost (2.2.7). +23° až +25°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený takto: 2,00 g zkoušené látky a 2,6 g tetraboritanu sodného R se rozpustí v asi 20 ml vody R ohřáté na 30 °C a třepe se nepřetržitě 15 min až 30 min bez dalšího zahřívání. Výsledný čirý roztok se zředí vodou R na 25,0 ml.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 5,0 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Měrná vodivost** (2.2.38). Nejvýše 20 µS.cm<sup>-1</sup>. 20,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. Vodivost tohoto roztoku se měří za mírného míchání magnetickým míchadlem při teplotě 20 °C.

**Redukující cukry.** 5,0 g se rozpustí mírným zahřátím v 25 ml vody R. Po ochlazení se přidá 20 ml citronanu měďnatého RS a několik skleněných kuliček. Zahřívá se tak, aby k varu došlo za 4 min a nechá se 3 min vařit. Rychle se ochladí a přidá se 100 ml roztoku kyseliny octové ledové R 2,4% (V/V) a 20,0 ml jodu 0,025 mol/l VS. Za stálého míchání se přidá 25 ml směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (6 + 94) a po rozpuštění sraženiny se titruje přebytek jodu thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS jako indikátoru, který se přidá před koncem titrace. Spotřebuje se nejvýše 12,8 ml thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS (0,2 %, počítáno jako glukosový ekvivalent).

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem uvedeným v odstavci Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku mannitolu na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (c) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času mannitolu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %).

**Olovo** (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5 µg/g). Zkoušená látka se rozpustí ve 150,0 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Nikl** (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce Nikl v polyolech (1 µg/g). Zkoušená látka se rozpustí ve 150,0 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Voda, semimikrostanovení** (2.5.12). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Mikrobiální znečištění.** Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků, celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše 10<sup>2</sup> bakterií a nejvýše 10<sup>2</sup> hub v gramu, stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

**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 4 m.j. endotoxinu v gramu pro parenterální přípravky obsahující méně než 100 g/l mannitolu,
- nejvýše 2,5 m.j. endotoxinu v gramu pro parenterální přípravky obsahující 100 g/l nebo více mannitolu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 5,0 g se rozpustí ve 25 ml *vody R* a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 0,5 g *mannitolu CRL* se rozpustí ve 2,5 ml *vody R* a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 0,5 g *mannitolu CRL* a 0,5 g *sorbitolu CRL* se rozpustí v 5 ml *vody R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *katexem silně kyselým (vápníková forma) R* (9 μm), udržované při teplotě (85 ± 1) °C,
- mobilní fáze, kterou je odplyněná *voda R*; průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného při konstantní teplotě.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (d) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času *mannitolu*.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas *mannitolu* asi 22 min a relativní retenční čas *sorbitolu* vzhledem k *mannitolu* je asi 1,25. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *mannitolu* a *sorbitolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou nejméně 2.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *mannitolu*.

Z ploch píků a deklarovaného obsahu *mannitolu CRL* se vypočítá obsah  $C_6H_{14}O_6$  v procentech.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- kde je to vhodné, nejvyšší koncentrace bakteriálních endotoxinů,
- kde je to vhodné, zda je látka vhodná k výrobě parenterálních lékových forem.

## Nečistoty

A. D-glucitol (*sorbitol*).

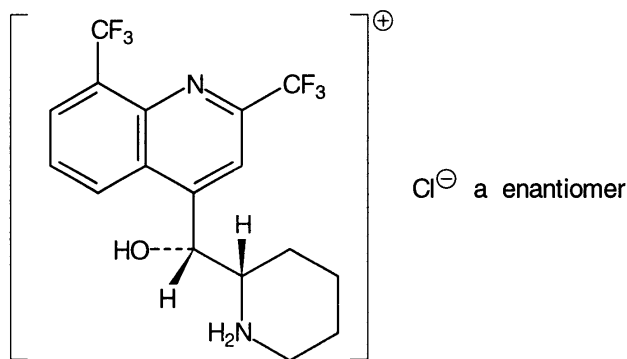


124. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Mefloquini hydrochloridum zní:

”

## † Mefloquini hydrochloridum

Meflochiniumchlorid



$C_{17}H_{17}ClF_6N_2O$

$M_r$  414,77

CAS 51773-92-3

Je to (2*RS*)-2-[(*RS*)-[2,8-bis(trifluormethyl)-4-chinoly]-(hydroxy)methyl]piperidiniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{17}H_{17}ClF_6N_2O$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě žlutý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96%.

Taje při asi 260 °C, za rozkladu.

Vykazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a E.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *meflochiniumchloridu CRL*. Pokud se získaná spektra liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v *methanolu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

**B.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*. Před použitím se vrstva promyje směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (20 + 80) a 15 min se suší při 100 °C až 105 °C.

*Zkoušený roztok.* 8 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 8 mg *meflochiniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

<sup>1)</sup> (2*RS*)-2-[(*RS*)-[2,8-bis(trifluormethyl)-4-chinoly]-(hydroxy)methyl]piperidin-1-ium-chlorid

*Porovnávací roztok (b).* 2,5 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1 ml porovnávacího roztoku (b) se smíchá s 1 ml roztoku *chinidiniumsulfatu R* (0,016 g/l) v *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese po 20 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (10 + 10 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 15 min v proudu teplého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Potom se slabě postříká čerstvě připravenou směsí objemových dílů *kyseliny sírové R* a *zkoumadla jodoplaticitého R* (1 + 40) a pak se postříká *peroxidem vodíku koncentrovaným R*. 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 (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

C. Asi 10 mg se smíchá v kelímku s 45 mg *oxidu hořečnatého těžkého R* a žihá se do získání prakticky bílého zbytku. Po ochlazení se přidají 2 ml *vody R*, 0,05 ml *fenolfaleinu RS1* a asi 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* do získání bezbarvého roztoku a směs se zfiltruje. K filtrátu se přidá čerstvě připravená směs, obsahující 0,1 ml *alizarinu S RS* a 0,1 ml *dusičnanoxidu zirkoničitého RS*, promíchá se a po 5 min stání se porovná zbarvení roztoku s kontrolním roztokem připraveným současně stejným způsobem. Zbarvení zkoušeného roztoku je žluté a zbarvení kontrolního roztoku je červené.

D. K asi 20 mg se přidá 0,2 ml *kyseliny sírové R*; roztok vykazuje v ultrafialovém světle při 365 nm modrou fluorescenci.

E. Vyhovuje zkoušce (b) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 2,50 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>7</sub> (2.2.2, *Metoda I*).

**Optická otáčivost** (2.2.7).  $-0,2^\circ$  až  $+0,2^\circ$ ; měří se úhel optické otáčivosti roztoku 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 25,0 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 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 8 mg *meflochiniumchloridu CRL* a 8 mg *chinidiniumsulfatu R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové předkolony délky 0,025 m a vnitřního průměru 4 mm a nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm, které jsou obě naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R* (5 µm),

- mobilní fáze, kterou je směs připravená následujícím způsobem: 1 g *tetraheptylamoniumbromidu R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R*, roztoku *hydrogensíranu sodného R* (1,5 g/l) a *acetonitrilu R* (200 + 400 + 400). Průtoková rychlost je 0,8 ml/min,

- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Při průtoku mobilní fáze 2 ml/min se kolona promývá do ustavení rovnováhy po dobu asi 30 min.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy chinidinu asi 2 min, meflochinu asi 4 min, nečistoty B asi 15 min a nečistoty A asi 36 min.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky chinidinu a meflochinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je nejméně 8,5.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající desetinásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku s relativním retenčním časem vzhledem k meflochinu asi 0,7 není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku

na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %), plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %) a součet ploch těchto piků není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,02 %).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Voda,** semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

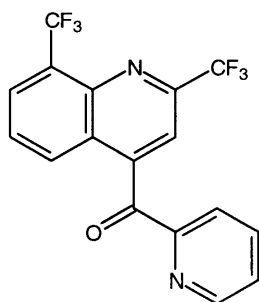
0,350 g se rozpustí v 15 ml kyseliny mravenčí bezvodé R, přidá se 40 ml acetanhydridu R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 41,48 mg C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O.

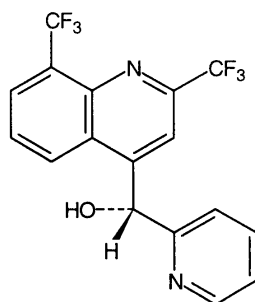
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

### Nečistoty

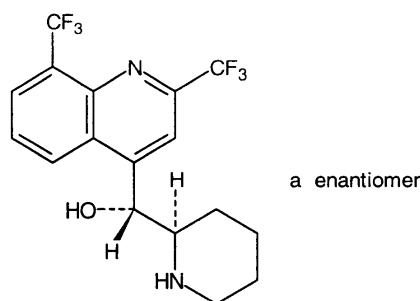


A. [2,8-bis(trifluormethyl)-4-chinolyl](2-pyridyl)keton,



a enantiomer

B. (R,S)-[2,8-bis(trifluormethyl)-4-chinolyl](2-pyridyl)methanol,



C. *(RS)*-[2,8-bis(trifluoromethyl)-4-quinoly][(2*RS*)-2-piperidyl]methanol.

“

125. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Methaqualonum doplňuje článek Methenaminum, který zní:

”

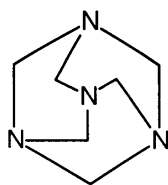
## Methenaminum

Methenamin

*Synonymum.* Hexamethylenetetraminum



2001



$C_6H_{12}N_4$

$M_r$  140,19

CAS 100-97-0

Je to 1,3,5,7-tetraazatricyklo[3,3,1,1<sup>3,7</sup>]dekan<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny  $C_6H_{12}N_4$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

<sup>1)</sup> 1,3,5,7-tetraazatricyklo[3.3.1.1<sup>3,7</sup>]dekan

## Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá *Ph. Eur. referenčnímu spektru methenaminu CRL*.
- B.** K 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml *kyseliny sírové R*, ihned se zahřeje k varu a nechá se ochladit. K 1 ml roztoku se přidají 4 ml *vody R*, 5 ml *acetylacetonu RS1* a zahřívá se 5 min na vodní lázni; vzniká intenzivní žluté zbarvení.
- C.** K 1 ml roztoku S se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a ihned se zahřeje k varu. Roztok vyhovuje zkoušce na amonné soli a soli těkavých bází (2.3.1).
- D.** 10 mg se rozpustí v 5 ml *vody R* a okyslí se *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS*. Přidá se 1 ml *roztoku jodobismutičnanu draselného RS*; ihned vznikne oranžová sraženina.

## 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*).

**Kyselý nebo zásaditě reagující látky.** K 5 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* nebo *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

**Volný formaldehyd.** 0,8 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 8 ml. Přidají se 2 ml *dusičnanu stříbrného amoniakálního RS*. Po 5 min není šedá barva roztoku intenzivnější než barva porovnávacího roztoku připraveného současně a stejným způsobem se směsí 8 ml čerstvě připraveného základního roztoku *formaldehydu (5 µg CH<sub>2</sub>O/ml)* a 2 ml *dusičnanu stříbrného amoniakálního RS (50 µg/g)*.

**Chloridy (2.4.4).** 5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 µg/g).

**Sírany (2.4.13).** 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100 µg/g).

**Amonium (2.4.1).** 2 ml čerstvě připraveného roztoku S se zředí *vodou R* na 13 ml. Přidají se 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na amonium (50 µg/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/ml). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (2 µg Pb/ml)*.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 2,0 %; 1,000 g se suší v exsikátoru.

## Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí ve 30 ml *methanolu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 14,02 mg C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

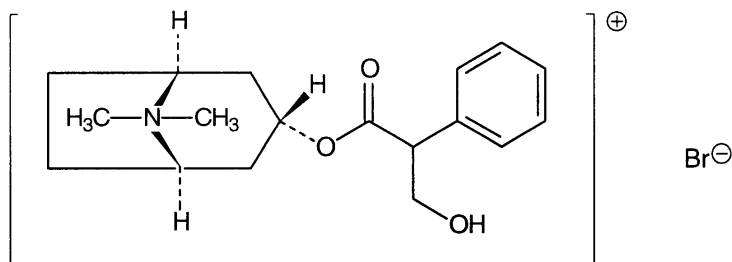
126. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Methylatropinii bromidum zní:

”

## †† Methylatropinii bromidum

Methylatropiniumbromid

*Synonyma.* Atropini methobromidum, Methylatropini bromidum



$C_{18}H_{26}BrNO_3$

$M_r$  384,31

CAS 2870-71-5

Je to (1*R*,3*r*,5*S*)-3-[(*RS*)-(2-fenyl-3-hydroxypropanoyl)oxy]-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo-[3,2,1]oktan-bromid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{18}H_{26}BrNO_3$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%. Taje při asi 219 °C, za rozkladu.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- Zkouška Optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *methylatropiniumbromidu CRL*.
- K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidají 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*; nevznikne žádná sraženina.
- K asi 1 mg se přidá 0,2 ml *kyseliny dusičné dýmové R* a odpaří se na vodní lázni do sucha. Zbytek se rozpustí ve 2 ml *acetonu R* a přidá se 0,1 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (30 g/l) v *methanolu R*; vzniká fialové zbarvení.
- Vyhovuje zkoušce (a) na bromidy (2.3.1).

<sup>1)</sup> (1*R*,3*r*,5*S*)-3-[(*RS*)-(2-fenyl-3-hydroxypropanoyl)oxy]-8,8-dimethyl-8-azoniabicyclo[3.2.1]oktan-bromid

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1,25 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H<sub>9</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,1 ml fenolftaleinu RS; roztok je bezbarvý. Přidá se 0,5 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok je červený.

**Optická otáčivost** (2.2.7).  $-0,25^\circ$  až  $+0,05^\circ$ ; měří se úhel optické otáčivosti roztoku ve 2 dm trubici, připravený rozpouštěním 2,50 g ve vodě R a zředěním vodou R na 25,0 ml.

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

**Zkoušený roztok.** 0,2 g se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a methanolu R (1 + 9) a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 5 ml.

**Porovnávací roztok.** 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů vody R a methanolu R (1 + 9) na 100 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů methanolu R, kyseliny mravenčí bezvodé R, vody R a ethylacetatu R (10 + 15 + 15 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se suší při 100 °C až 105 °C do vymizení pachu rozpouštědel, nechá se ochladit a postříká se jodobismutitanem draselným zředěným RS do objevení skvrn. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %).

**Apomethylatropin.** 0,10 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximech při 252 nm a 257 nm. Poměr absorbance v maximu při 257 nm k absorbanci v maximu při 252 nm není menší než 1,19.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 0,500 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se se zbytkem ze zkoušky Ztráta sušením.

## Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, 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 38,43 mg C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>BrNO<sub>3</sub>.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

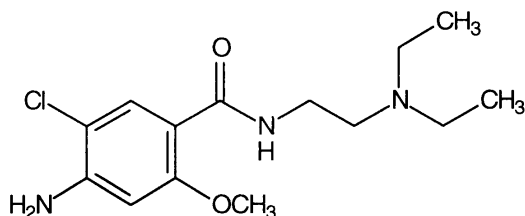
Venenum.

127. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Metoclopramidum zní:

”

## † Metoclopramidum

Metoklopramid



$C_{14}H_{22}ClN_3O_2$

$M_r$  299,81

CAS 364-62-5

Je to 4-amino-5-chlor-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-methoxybenzamid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý jemný prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v dichlormethanu, mírně až těžce rozpustný v lihu 96%.

Vyazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 145 °C až 149 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *metoklopramidu CRL*.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce *Příbuzné látky*, část A, viz *Zkoušky na čistotu*. Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm před postříkáním *dimethylaminobenzaldehydem RS1*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 2,5 g se rozpustí v 25 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS*. Čerstvě připravený roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $Z_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

#### Příbuzné látky

A. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

<sup>1)</sup> 4-amino-5-chlor-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-methoxybenzamid



*Zkoušený roztok (a).* 40 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 0,160 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 20 mg *metoklopramidu CRL* a 10 mg *sulpiridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 20 mg *N,N-diethylethylendiamin R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *dioxanu R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (2 + 10 + 14 + 90) po dráze 12 cm. Vrstva se suší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm (zkouška totožnosti C). Potom se vrstva postříká *dimethylaminobenzaldehydem RSI* a opět se suší na vzduchu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) žádná skvrna, odpovídající nečistotě E (není viditelná v ultrafialovém světle při 254 nm), není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

#### **B.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 10,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 0,2 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10,0 mg *metoklopramidu nečistoty A CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se smíchá s 0,1 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze připravené takto: 6,8 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 700 ml *vody R*, přidá se 0,2 ml *N,N-dimethyloktylaminu R* a pH roztoku se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 4,0, zředí se *vodou R* na 1000 ml, přidá se 250 ml *acetonitrilu R* a zamíchá se; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.

Nastříkne se po 10 µl každého roztoku a citlivost systému se nastaví tak, aby výšky hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi dvěma hlavními píky nejméně 2,0. Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající osminásobku retenčního času *metoklopramidu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %) a součet ploch těchto píků není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,6 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Těžké kovy** (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg Pb/ml).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

#### **Stanovení obsahu**

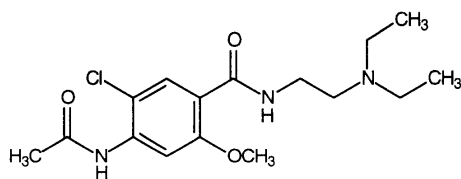
0,250 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R*, přidá se 5 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 29,98 mg  $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ .

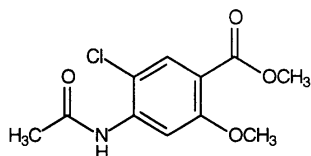
#### **Uchovávání**

Separandum.

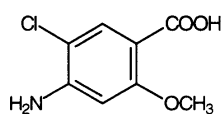
## Nečistoty



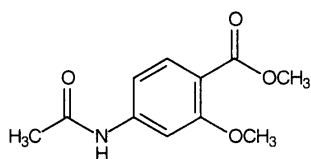
A. 4-acetamido-5-chlor-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-methoxybenzamid<sup>2)</sup>,



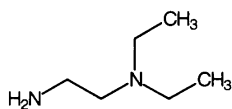
B. methyl-4-acetamido-5-chlor-2-methoxybenzoat<sup>3)</sup>,



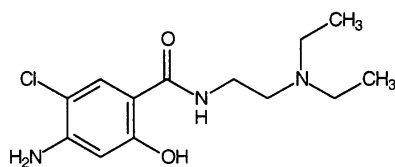
C. kyselina 4-amino-5-chlor-2-methoxybenzoová,



D. methyl-4-acetamido-2-methoxybenzoat<sup>4)</sup>,



E. N,N-diethylethylendiamin,



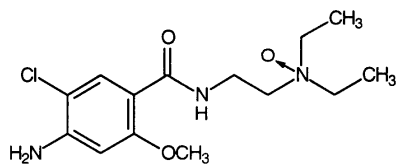
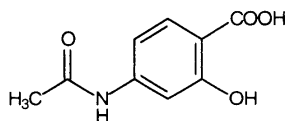
F. 4-amino-5-chlor-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-hydroxybenzamid<sup>5)</sup>,

<sup>2)</sup> 4-acetamido-5-chlor-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-methoxybenzamid

<sup>3)</sup> methyl-4-acetamido-5-chlor-2-methoxybenzoát

<sup>4)</sup> methyl-4-acetamido-2-methoxybenzoát

<sup>5)</sup> 4-amino-5-chlor-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-hydroxybenzamid

G. N-[2-(4-amino-5-chlor-2-methoxybenzamido)ethyl]diethylaminoxid<sup>6)</sup>,

H. kyselina 4-acetamido-2-hydroxybenzoová.

“

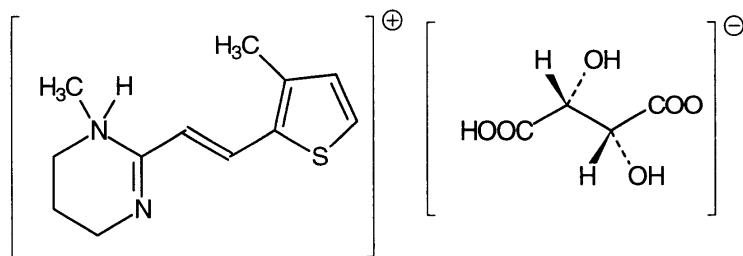
128. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Mometasoni furoas doplňuje článek Moranteli hydrogenotartras, který zní:

”

## † Moranteli hydrogenotartras

Moranteliumhydrogentartarat

2001

C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S

M, 370,42

CAS 26155-31-7

Je to 1-methyl-2-[(*E*)-2-(3-methyl-2-thienyl)vinyl]-1,4,5,6-tetrahydropyrimidiniumhydrogentartarat<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S.

<sup>6)</sup> N-[2-(4-amino-5-chlor-2-methoxybenzamido)ethyl]diethylaminoxid

<sup>1)</sup> 1-methyl-2-[(*E*)-2-(3-methyl-2-thienyl)vinyl]-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-1-ium-hydrogen-tartarát

## Vlastnosti

Bílý nebo světle žlutý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v ethylacetatu.

## Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady (1.2)*.

A. Teplota tání (2.2.14). 167 °C až 172 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *moranteliumhydrogentartaratu CRL*.

C. Asi 10 mg se rozpustí v 1 ml roztoku *vanadičnanu amonného R* (5 g/l), odpaří se do sucha a pak se přidá 0,1 ml *kyseliny sírové R*; vznikne fialovočervené zbarvení.

D. Asi 10 mg se v dělicí nálevce rozpustí v 1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a vytřepe se s 5 ml *dichlormethanu R*. Organická vrstva se odstraní a vodná vrstva se zneutralizuje několika kapkami *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Tento roztok vyhovuje zkoušce (b) na vínany (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,25 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 25,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok ZŽ<sub>6</sub> nebo Ž<sub>6</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 2,8 až 3,2; měří se roztok S.

## Příbuzné látky.

A. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Zkouška se provádí za ochrany před světlem.*

*Zkoušený roztok.* 50,0 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).* 2,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 10 ml porovnávacího roztoku (a) se před nástřikem vystaví působení denního světla po dobu 15 min.

*Porovnávací roztok (d).* 15,0 mg *kyseliny vinné 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 0,25 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 *triethylaminu R* a *vody R* s pH upraveným *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,5, *tetrahydrofuranu R* a *methanolu R* (0,35 + 85 + 5 + 10); průtoková rychlost je 0,75 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 226 nm.

Nástříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a po 20 μl každého porovnávacího roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) rozlišení mezi hlavním píkem a předěšlým píkem (Z-izomer) není menší než 2.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného, kromě hlavního píku, píku rozpouštědla a píku *kyseliny vinné*, není větší než 0,5 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); součet ploch všech píků není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Nepřihlíží se k píku rozpouštědla, k píku *kyseliny vinné* a k píkům, jejichž plocha je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,02 %).

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*. *Zkouška se provádí za ochrany před světlem.*

*Zkoušený roztok.* 0,200 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1,0 mg *moranteliumhydrogentartaratu nečistoty F CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 5 ml tohoto roztoku se vystaví před nanášením působení denního světla po dobu 1 h.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové R*, *vo-dy R* a *ethylacetatu R* (25 + 25 + 55) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a potom se pozoruje v ultrafialo-vém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenziv-nější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,05 %). Potom se vrstva pozoruje v ultra-fialovém světle při 254 nm. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny. Vrstva se rovnoměrně postříká *jodobismutitanem draselným RS* a suší se 2 min v proudu teplého vzduchu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %).

**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 1,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

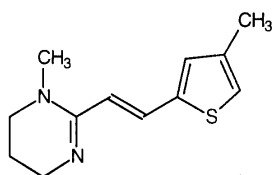
0,280 g se rozpustí ve 40 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciomet-rické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 37,04 mg  $C_{16}H_{22}N_2O_6S$ .

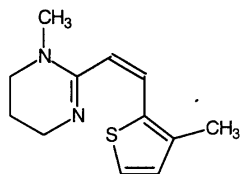
### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

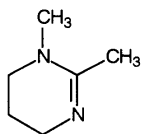
### Nečistoty



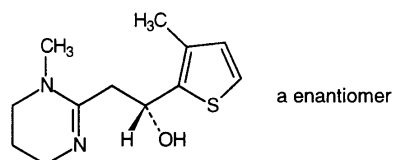
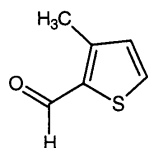
A. 1-methyl-2-[(E)-2-(4-methyl-2-thienyl)vinyl]-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin,



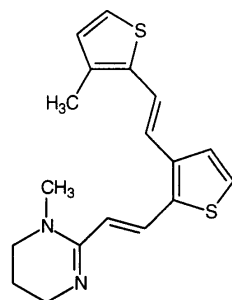
B. 1-methyl-2-[(Z)-2-(4-methyl-2-thienyl)vinyl]-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin,



C. 1,2-dimethyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin,

D. (*RS*)-2-(1-methyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-yl)-1-(3-methyl-2-thienyl)ethanol<sup>2)</sup>,

E. 3-methylthiophen-2-karbaldehyd,

F. 1-methyl-2-[(*E*)-2-{3-[(*E*)-2-(3-methyl-2-thienyl)vinyl]-2-thienyl}vinyl]-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin.

---

<sup>2)</sup> (*RS*)-2-(1-methyl-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-yl)-1-(3-methyl-2-thienyl)ethan-1-ol

129. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Macidis etheroleum* zní:

”

## Myristicae fragrantis etheroleum

Muškatová silice

*Synonyma.* Myristicae fragrantis aetheroleum, Macidis etheroleum, Oleum macidis



Je to silice získaná z usušeného a nastrouhaného semene druhu *Myristica fragrans* HOUTT. destilací s vodní parou.

### Vlastnosti

Bezbarvá nebo světle žlutá tekutina aromatického pachu.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní zkouška: A, viz *Obecné zásady* (1.2).

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

Zkoušený roztok. 1 ml se rozpustí v toluenu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 20 µl myristicinu R se rozpustí v 10 ml toluenu R.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů ethylaceta-tu R a toluenu R (5 + 95) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se zkoumadlem vanilinovým R. Vrstva se suší 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího rozto-ku je v horní třetině růžová až červenohnědá skvrna (myristicin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je řada skvrn, z nichž jedna odpovídá polohou a zbarvením skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku, nad ní je na-hnědlá skvrna (safrol) a fialová skvrna (uhlovodíky). Pod skvrnou myristicinu je pět modrých skvrn různé intenzity.

B. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Chromatografický profil, viz Zkoušky na čistotu. Retenční časy hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají retenčním časům hlavních píků na chromatogramu porov-návacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

Relativní hustota (2.2.5). 0,885 až 0,905.

Index lomu (2.2.6). 1,475 až 1,485.

Optická otáčivost (2.2.7). +8° až +18°.

Chromatografický profil. Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Porovnávací roztok. 15 µl  $\alpha$ -pinenu R, 15 µl  $\beta$ -pinenu R, 15 µl sabinenu R, 5 µl kar-3-enu R, 5 µl limonenu R, 5 µl  $\gamma$ -terpinenu R, 5 µl terpinen-4-olu R, 5 µl safrolu R a 10 µl myristicinu R se rozpustí v 1 ml hexanu R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 25 m až 60 m a vnitřního průměru asi 0,3 mm s vnitřní stěnou pokrytou makro-golem 20 000 R,
- 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)	Poznámky
kolona	0 - 10	50	2	izotermicky lineární gradient izotermicky
	10 - 75	50 → 180		
	75 - 130	180		
nástříkový prostor detektor		200 - 220 240 - 250		

Nastříkne se 0,2 µl porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jednotlivé látky eluují v pořadí uvedeném ve složení porovnávacího roztoku. Zaznamenají se retenční časy těchto látek.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími β-pinenu a sabinenu je nejméně 1,5.

Nastříkne se 0,2 µl zkoušeného roztoku. Porovnáním retenčních časů píků na chromatogramu zkoušeného roztoku s retenčními časy píků na chromatogramu porovnávacího roztoku se identifikují látky přítomné ve zkoušeném roztoku. Obsah jednotlivých látek v procentech se stanoví metodou normalizace.

Obsah látek v procentech se pohybuje v rozmezí:

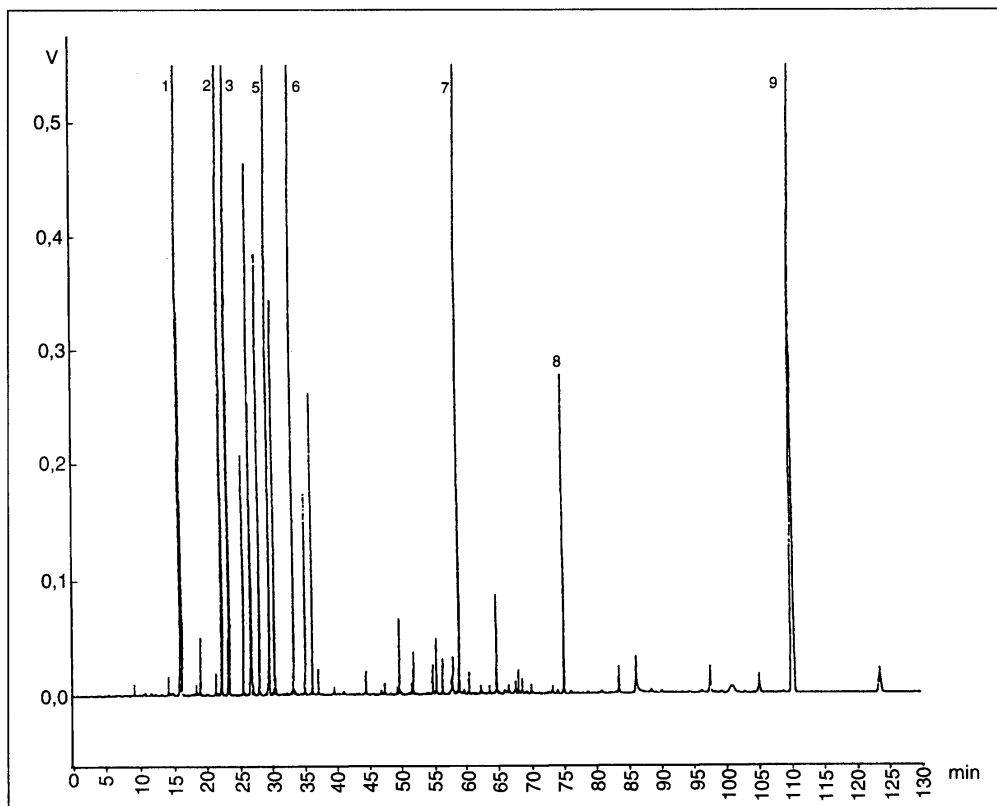
α-pinen:	15 % až 28 %,
β-pinen:	13 % až 18 %,
sabinen:	14 % až 29 %,
kar-3-en:	0,5 % až 2,0 %,
limonen:	2,0 % až 7,0 %,
γ-terpinen:	2,0 % až 6,0 %,
terpinen-4-ol:	2,0 % až 6,0 %,
safrol:	nejvýše 2,5 %,
myristicin:	5,0 % až 12,0 %.

### Uchovávání

Ve zcela naplněných vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem a teplem.



*Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.*



**Obr. 1** Vzorový chromatogram muškátové silice pro zkoušku chromatografický profil.

1 =  $\alpha$ -pinen; 2 =  $\beta$ -pinen; 3 = sabinen; 4 = kar-3-en; 5 = limonen; 6 =  $\gamma$ -terpinen; 7 = terpinen-4-ol; 8 = safrol; 9 = myristicin

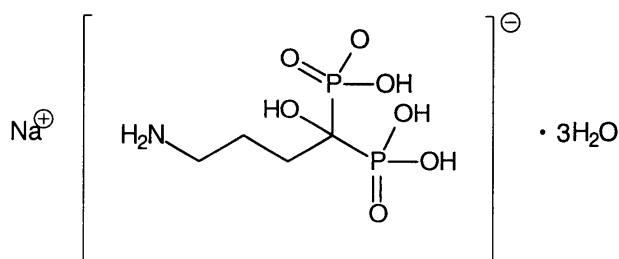
130. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Natrii acetat doplňuje článek Natrii alendronas trihydricus, který zní:

”

## † Natrii alendronas trihydricus

Trihydrát natriumalendronatu

*Synonymum.* Natrii alendronas



$\text{C}_4\text{H}_{12}\text{NNaO}_7\text{P}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  325,12

CAS 121268-17-5

Je to trihydrát monosodné soli kyseliny (4-amino-1-hydroxybutan-1,1-diyl)bisfosfonové. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{NNaO}_7\text{P}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *trihydrátu natriumalendronatu CRL*.
- B. Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,5 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 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). 4,0 až 5,0; měří se roztok S.

**Kyselina 4-aminobutanová.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 0,10 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 0,10 g kyseliny 4-aminobutanové R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 200 ml.

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

Na vrstvu se nanese odděleně 5 μl zkoušeného roztoku a 5 μl porovnávacího roztoku (b). Vrstva se nechá usušit na vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R, kyseliny octové ledové R a 1-butanolu R (20 + 20 + 60) po dráze

15 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Skvrny odpovídající kyselině 4-aminobutanové na chromatogramu zkoušeného roztoku nejsou intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %).

**Fosforečnany a fosforitany.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího fosforečnanu není větší než plocha píku fosforečnanu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,5 %); plocha píku odpovídajícího fosforitanu není větší než plocha píku fosforitanu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,5 %).

**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).** 16,1 % až 17,1 %; stanoví se s 1,000 g sušením v sušárně při 140 °C až 145 °C.

## Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 50,0 mg se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50,0 mg *alendronatu sodného CRL* se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 3,0 g *kyseliny fosforečné R* se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 2,5 g *kyseliny fosforité R* se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 2,0 ml porovnávacího roztoku (b) se smíchají s 2,0 ml porovnávacího roztoku (c) a zředí se vodou *R* na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *anexem RI* (5 µm),
- mobilní fáze, která je roztokem 0,2 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R* v 1000 ml *vody R*, s pH upraveným *hydroxidem sodným 2 mol/l RS* na hodnotu 3,5; průtoková rychlost je 1,2 ml/min,
- refraktometrického detektoru,
- injektorové smyčky, 100 µl.

Teplota kolony se udržuje na 35 °C.

Nastříkne se šestkrát porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, pokud relativní směrodatná odchylka plochy píku *alendronatu sodného* je nejvýše 1,0 %. Nastříkne se zkoušený roztok, porovnávací roztok (a) a porovnávací roztok (d). Retenční čas *alendronatu sodného* je asi 16 min a relativní retenční časy jsou: fosforečnanu asi 1,3 a fosforitanu asi 1,6. Chromatogramy se zaznamenávají po dobu dvojnásobku retenčního času hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku.

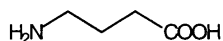
Z ploch píků a deklarovaného obsahu *alendronatu sodného CRL* se vypočte procentuální obsah  $C_4H_{12}NNaO_7P_2$ .

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Separandum.

## Nečistoty



A. kyselina 4-aminobutanová,

B. fosforečnan,

C. fosforitan.

131. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Natrii hydrogenocarbonas zní:

”

## Natrii hydrogenocarbonas

Hydrogenuhlíčitán sodný



2001

$\text{NaHCO}_3$

$M_r$  84,01

CAS 144-55-8

Obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $\text{NaHCO}_3$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Zahřátím v suchém stavu nebo v roztoku se postupně mění na uhličitán sodný.

### Zkoušky totožnosti

- A. K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; vznikne slabě růžové zbarvení. Zahřátím se uvolňuje plyn a roztok se zbarví červeně.
- B. Vyhovuje zkoušce na uhličitany a hydrogenuhlíčitany (2.3.1).
- C. Roztok S vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 5,0 g se rozpustí v 90 ml *vody prosté oxidu uhličitého 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*).

**Uhličitany.** Hodnota pH (2.2.3) čerstvě připraveného roztoku S není vyšší než 8,6.

**Chloridy** (2.4.4). K 7 ml roztoku S se přidají 2 ml *kyseliny dusičné R* a zředí se *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (150  $\mu\text{g/g}$ ).

**Sírany** (2.4.13). K suspenzi připravené z 1,0 g a 10 ml *vody destilované R* se přidává *kyselina chlorovodíková R* do neutrální reakce a asi 1 ml se přidá navíc a zředí se *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (150  $\mu\text{g/g}$ ).

**Amonium** (2.4.1). 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na amonium (20  $\mu\text{g/g}$ ). Porovnávací roztok se připraví za použití směsi 5 ml *vody R* a 10 ml základního roztoku *amonia* (1  $\mu\text{g NH}_4/\text{ml}$ ).

**Arsen** (2.4.2). 0,5 g vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (2  $\mu\text{g/g}$ ).

**Vápník** (2.4.3). K suspenzi připravené z 1,0 g a 10 ml *vody destilované R* se přidává *kyselina chlorovodíková R* až do neutrální reakce a zředí se *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na vápník (100  $\mu\text{g/g}$ ).

**Železo** (2.4.9). 0,5 g se rozpustí v 5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (20  $\mu\text{g/g}$ ).

**Těžké kovy** (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve směsi 2 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 18 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  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

**Stanovení obsahu**

1,500 g se rozpustí v 50 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, přidá se 0,2 ml *oranže methylové RS* jako indikátoru a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS*.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* odpovídá 84,0 mg  $\text{NaHCO}_3$ .

“

132. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Natrii hydrogenocarbonas doplňuje článek Natrii hydrogenophosphas, který zní:

”

**Natrii hydrogenophosphas**

Hydrogenfosforečnan sodný

*Synonyma.* Dinatrii phosphas anhydricus, Natrii hydrogenophosphas anhydricus



2001

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$

$M_r$  141,96

CAS 7558-79-4

Je to bezvodý hydrogenfosforečnan sodný. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .

**Vlastnosti**

Bílý prášek, hygroskopický, dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

**Zkoušky totožnosti**

- A. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, je slabě alkalický (2.2.4).
- B. Zkouška Ztráta sušením, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Roztok S vyhovuje zkouškám (b) na fosforečnany (2.3.1).
- D. Roztok S vyhovuje zkouškám (a) na sodík (2.3.1).

**Zkoušky na čistotu**

**Roztok S.** 5,0 g se rozpustí ve *vodě destilované 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*).

**Redukující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 5 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 0,25 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l RS* a zahřívá se 5 min na vodní lázni; zbarvení roztoku zůstane slabě červené.

**Dihydrogenfosforečnan sodný.** Ze spotřeby *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* (25 ml) a spotřeby *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* ( $n_1$  ml a  $n_2$  ml) ze zkoušky Stanovení obsahu se vypočítá poměr:

$$\frac{n_2 - 25}{25 - n_1},$$

který je nejvýše 0,025.

**Chloridy** (2.4.4). 5 ml roztoku S se zředí *kyselinou dusičnou zředěnou RS* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 µg/g).

**Sírany** (2.4.13). K 6 ml roztoku S se přidají 2 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (500 µg/g).

**Arsen** (2.4.2). 10 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (2 µg/g).

**Železo** (2.4.9). 10 ml roztoku S 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). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 5 ml základního roztoku *olova* (1 µg/g) a 5 ml *vody R*.

**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

1,600 g (*m*) se rozpustí ve 25,0 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a přidá se 25,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS*. Titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) do prvního inflexního bodu ( $n_1$  ml). Pokračuje se v titraci do druhého inflexního bodu (celková spotřeba *hydroxidu sodného 1 mol/l VS*,  $n_2$  ml).

Obsah  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  v procentech se vypočítá ze vzorce:

$$\frac{1420(25 - n_1)}{m(100 - d)}$$

v němž značí:

*d* - ztrátu sušením v procentech.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

“

133. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Natrii laurilsulfas* doplňuje článek *Natrii molybdas dihydricus*, který zní:

”

## Natrii molybdas dihydricus

Dihydrát molybdenanu sodného



2001

$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  241,95  
 $M_r$  bezvodého 205,92

CAS 10102-40-6

Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 100,5 % sloučeniny  $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ .

### Vlastnosti

Bílý prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě.

## Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Ztráta sušením, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. 0,2 g se rozpustí v 5 ml směsi stejných objemových dílů *kyseliny dusičné R* a *vody R* a přidá se 0,1 g *chloridu amonného R*. Po přidání 0,3 ml *hydrogenfosforečnanu sodného RS* se pomalu zahřívá při 50 °C až 60 °C; vznikne žlutá sraženina.
- C. 0,15 g se rozpustí ve 2 ml *vody R*; roztok vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 10,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml.

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

**Chloridy.** 10 ml roztoku S se za míchání přidá k 10 ml směsi stejných objemových dílů *kyseliny dusičné R* a *vody R*. Přidá se 1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS*. Po 5 min není opalescence intenzivnější než opalescence porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 2 ml základního roztoku *chloridů (50 µg Cl/ml) (50 µg/g)*.

**Fosforečnany.** 2,0 g se zahřátím rozpustí ve 13 ml *vody R*. V ještě horkém roztoku se rozpustí 8,0 g *dusičnanu amonného RI*. Tento roztok se přidá ke 27 ml směsi stejných objemových dílů *kyseliny dusičné R* a *vody R*. Po 3 h žluté zbarvení nebo opalescence roztoku není intenzivnější než zbarvení nebo opalescence porovnávacího roztoku připraveného současně takto: 1,0 g se rozpustí ve 12 ml *vody R* a přidá se 1 ml základního roztoku *fosforečnanů (200 µg PO<sub>4</sub>/ml) (200 µg/g)*.

**Amonium (2.4.1).** 0,10 g vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1 ml základního roztoku *amonie (1 µg NH<sub>4</sub>/ml)*.

**Těžké kovy.** K 10 ml roztoku S se přidají 2 ml *vody R*, 6 ml roztoku *hydroxidu sodného R (168 g/l)* a 2 ml *amonia-ku 26% R (roztok A)*. K 0,5 ml *zkoumadla thioacetamidového R* se přidá směs 15 ml roztoku A a 5 ml *vody R*. Po 2 min není zbarvení roztoku intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně takto: k 0,5 ml *zkoumadla thioacetamidového R* se přidá směs 5 ml roztoku A, 1 ml základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)* a 14 ml *vody R (10 µg/g)*.

**Ztráta sušením (2.2.32).** 14,0 % až 16,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 140 °C.

## Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí ve 30 ml *vody R*, přidá se 0,5 g *methenaminu R* a 0,1 ml roztoku *kyseliny dusičné R (250 g/l)*. Zahřeje se na 60 °C a titruje se *dusičnanem olovnatým 0,05 mol/l VS* za použití *4-(2-pyridylazo)resorcinolu monosodné soli R* jako indikátoru.

1 ml *dusičnanu olovnatého 0,05 mol/l VS* odpovídá 10,30 mg Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.

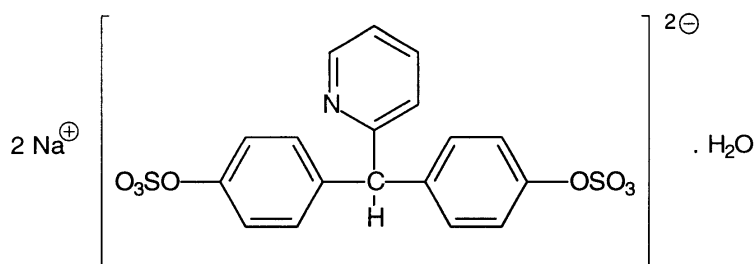
134. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Natrii picosulfas zní:

”

## † Natrii picosulfas monohydricus

Monohdrát pikosíranu sodného

*Synonymum.* Natrium picosulfuricum, Natrii picosulfas



$\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{NNa}_2\text{O}_8\text{S}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

$M_r$  499,42

CAS 10040-45-6

Je to monohdrát disodné soli kyseliny 4,4'-(2-pyridylmetylen)bis(fenylosírové)<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 100,5 % sloučeniny  $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{NNa}_2\text{O}_8\text{S}_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a E.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety monohdrátu pikosíranu sodného CRL.
- B.** Chromatogramy získané při zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu, 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).
- C.** K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zahřeje se k varu. Přidá se 1 ml chloridu barnatého RS1; vznikne bílá sraženina.
- D.** K asi 10 mg se přidají 3 ml kyseliny sírové R a 0,1 ml dichromanu draselného RS1; vzniká fialové zbarvení.
- E.** Roztok S vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

<sup>1)</sup> dinatrium-4,4'-(2-pyridylmetylen)difenyl-disulfátu



## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 2,5 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok ZZ<sub>7</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Kysel nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,05 ml *fenolftaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Ke změně zbarvení indikátoru na růžové se spotřebuje nejvýše 0,25 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF<sub>254</sub> R*.

*Zkoušený roztok (a).* 0,20 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 20 mg *monohydrát pikosíranu sodného CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 2 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 100 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 0,20 g zkoušené látky se rozpustí ve 2 ml roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (103 g/l). Směs se zahřeje rychle k varu a vaří se 10 s. Potom se ochladí ve vodě s ledem a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *vody R*, *methanolu R* a *ethylacetatu R* (2,5 + 12,5 + 25 + 60) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 15 min v proudě horkého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Potom se vrstva postříká roztokem *kyseliny chlorovodíkové R* (200 g/l) v *methanolu R* a zahřívá se 10 min při 110 °C. Horká vrstva se postříká čerstvě připraveným roztokem obsahujícím *chlorid železitý R* (50 g/l) a *hexakvanoželezitan draselný R* (1 g/l) a pozoruje se vlhká vrstva. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou tři zřetelně oddělené skvrny. Čtvrtá skvrna může být na startu.

**Chloridy (2.4.4).** 5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 µg/g).

**Sírany (2.4.13).** 7,5 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (400 µg/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 10 ml základního roztoku *olova (1 µg Pb/ml)*.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** 3,0 % až 5,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

0,400 g se rozpustí v 80 ml *methanolu 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 48,14 mg  $C_{18}H_{13}NNa_2O_8S_2$ .

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.  
Separandum.

## Nečistoty

A. natrium-4-[(2-pyridyl)(4-hydroxyfenyl)methyl]fenyl-sulfat<sup>2)</sup>,

B. 4,4'-[(2-pyridyl)methylen]difenol.

66

---

<sup>2)</sup> natrium-4-[(2-pyridyl)(4-hydroxyfenyl)methyl]fenyl-sulfát

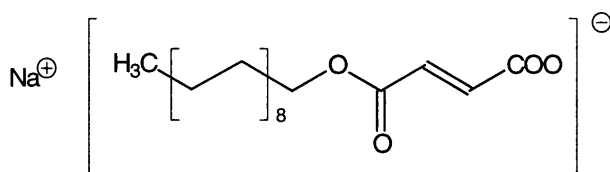
135. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Natrii salicylas doplňuje článek Natrii stearylis fumaras, který zní:

”

## Natrii stearylis fumaras

Natriumstearylfumarat

2001



$\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{NaO}_4$

$M_r$  390,53

CAS 4070-80-8

Je to natrium-oktadecyl-(*E*)-but-2-endioát<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,5 % sloučeniny  $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{NaO}_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý jemný prášek s hrudkami plochých kruhovitých částic. Je prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v acetonu a v ethanolu.

### Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *natriumstearylfumaratu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Příbuzné látky.** Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

**Silylační roztok.** 2 ml *N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid R* se smíchá s 0,02 ml *chlortrimethylsilanu R*.

**Zkoušený roztok.** K 15,0 mg se do lahvičky se šroubovacím uzávěrem přidá 1 ml silylačního roztoku. Po uzavření lahvičky se zahřívá 1 h při asi 70 °C. Po reakci zůstane v lahvičce sraženina; roztok se zfiltruje přes nylonový filtr (velikost pórů 0,45 μm).

**Porovnávací roztok.** K 1,0 mg *natriumstearylmaleinatu CRL* a 1,0 mg *natriumstearylfumaratu CRL* se do lahvičky se šroubovacím uzávěrem přidá 1 ml silylačního roztoku. Po uzavření se zahřívá 1 h při asi 70 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 15 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřní stěnou pokrytou *poly(difenyl)(dimethyl)siloxanem R* (tloušťka filmu 0,15 μm),
- *helía pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 50 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1 : 25 s následujícím teplotním programem:

<sup>1)</sup> natrium-oktadecyl-(*E*)-but-2-endioát

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
kolona	0 - 1	180	-	izotermicky
	1 - 21	180 → 320	7	lineární gradient
	21 - 26	320	-	izotermicky
nástříkový prostor		250		
detektor		320		

Nastříkne se po 2 µl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky nejméně 1,5. Procentuální obsah známých nečistot se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku metodou normalizace, píky se identifikují podle jejich relativních retenčních časů (viz tabulka 1). Obsah žádné nečistoty není větší než 0,5 % a součet obsahů všech nečistot není větší než 5,0 %.

Tab. 1

Nečistoty	Přibližné relativní retenční časy
stearylalkohol	0,30
stearylalkohol TMS-ether (trimethylsilyl-ether)	0,35
monopalmitylfumarat TMS-ester	0,80
monoheptadecylfumarat TMS-ester	0,85
monostearylmaléinat TMS-ester	0,90
monostearylfumarat TMS-ester	1 (R <sub>t</sub> 9,3 min)
monononadecylfumarat TMS-ester	1,05
monoikosenylfumarat TMS-ester	1,15
distearylfumarat	2,25

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 5,0 %; stanoví se s 0,250 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,250 g, přesně navážených, se rozpustí v 10 ml *dichlormethanu R*, přidá se 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 39,05 mg C<sub>22</sub>H<sub>39</sub>NaO<sub>4</sub>.

136. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Natrii tetraboras zní:

”

## Natrii tetraboras decahydricus

Dekahydrát tetraboritanu sodného

*Synonyma.* Borax, Natrii tetraboras, Natrium tetraboricum



2001

$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  381,37  
 $M_r$  bezvodého 201,22

CAS 1303-96-4

Je to dekahydrát tetraboritanu disodného. Obsahuje 99,0 % až 103,0 % sloučeniny  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek, bezbarvé krystaly nebo krystalická zvětrávající hmota. Je dobře rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný ve vroucí vodě, snadno rozpustný v glycerolu.

### Zkoušky totožnosti

- A.** K 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 0,1 ml *kyseliny sírové R*, 5 ml *methanolu R* a zapálí se. Plamen má zelený okraj.
- B.** K 5 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*. Roztok se zbarví červeně. Po přidání 5 ml *glycerolu 85% R* barva zmizí.
- C.** Roztok S vyhovuje zkoušce na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 4,0 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). 9,0 až 9,6; měří se roztok S.

**Sírany** (2.4.13). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (50  $\mu\text{g/g}$ ). Použije se 1,0 ml *kyseliny octové R* místo předepsaného 0,5 ml. Porovnávací roztok se připraví za použití směsi 3 ml základního *roztoku síranů* (10  $\mu\text{g SO}_4/\text{ml}$ ) a 12 ml *vody destilované R*.

**Amonium** (2.4.1). 6 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 14 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na amonium (10  $\mu\text{g/g}$ ). Porovnávací roztok se připraví za použití směsi 2,5 ml základního *roztoku amonia* (1  $\mu\text{g NH}_4/\text{ml}$ ) a 7,5 ml *vody R*.

**Arsen** (2.4.2). 5 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (5  $\mu\text{g/g}$ ).

**Vápník** (2.4.3). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na vápník (100  $\mu\text{g/g}$ ). Porovnávací roztok se připraví za použití směsi 6 ml základního *roztoku vápníku* (10  $\mu\text{g Ca/ml}$ ) a 9 ml *vody destilované R*.

**Těžké kovy** (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (25  $\mu\text{g/g}$ ). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní *roztok olova* (1  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

### Stanovení obsahu

20 g *mannitolu R* se rozpustí, je-li třeba zahřátím, ve 100 ml *vody R*. Po ochlazení se přidá 0,5 ml *fenolftaleinu RS* a neutralizuje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do vzniku růžového zbarvení. K tomuto roztoku se přidají 3,00 g zkoušené látky a zahřívá se do úplného rozpuštění. Po ochlazení se titruje *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* opět do vzniku růžového zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 0,1907 g  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ .

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

“

137. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Natrii thiosulfas* zní:

”

## Natrii thiosulfas pentahydricus

Pentahydrát thiosíranu sodného

*Synonyma.* Natrii thiosulfas, Natrium thiosulfuricum



2001

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

*M*, 248,17

CAS 10102-17-7

Obsahuje 99,0 % až 101,0 %  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

### Vlastnosti

Bezbarvé průsvitné krystaly, zvětrávající na suchém vzduchu. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Částečně se rozpouští ve vlastní krystalické vodě při asi 49 °C.

### Zkoušky totožnosti

- Odbarvuje *jod RS*.
- K 0,5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 0,5 ml *vody R* a 2 ml *dusičnanu stříbrného RS2*; tvoří se bílá sraženina, jejíž zbarvení se rychle mění na nažloutlé a potom na černé.
- K 2,5 ml roztoku S se přidá 2,5 ml *vody R* a 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*; vysráží se síra a tvoří se plyn, který barví *papír škrobový s jodičnanem draselným R* na modro.
- 1 ml roztoku S vyhovuje zkoušce (a) na sodík (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). 6,0 až 8,4; měří se roztok S.

**Sírany a siřičitany.** 2,5 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 10 ml. Ke 3 ml tohoto roztoku se nejdříve přidají 2 ml jodu RS a potom se přidává jod RS po kapkách do vzniku velmi slabého stálého žlutého zbarvení. Roztok se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (2.4.13) (0,2 %).

**Sulfidy.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,05 ml čerstvě připraveného roztoku nitroprussidu sodného R (50 g/l); roztok se nezbarví fialově.

**Těžké kovy.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,05 ml sulfidu sodného RS a nechá se 2 min stát; hnědé zbarvení roztoku není intenzivnější než porovnávací roztok připravený současně stejným způsobem za použití 10 ml základního roztoku olova (1  $\mu\text{g Pb/ml}$ ) (10  $\mu\text{g/g}$ ).

### Stanovení obsahu

0,500 g se rozpustí ve 20 ml vody R a titruje se jodem 0,05 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS jako indikátoru přidaného před koncem titrace.

1 ml jodu 0,05 mol/l VS odpovídá 24,82 mg  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

“

138. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Natrii valproas doplňuje článek Neohesperidin-dihydrochalconum, který zní:

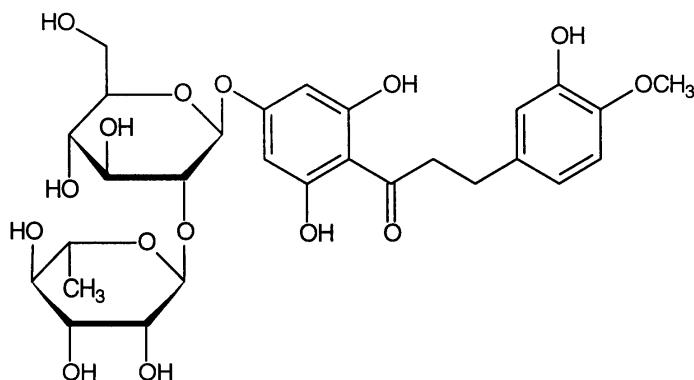
”

## Neohesperidin-dihydrochalconum

Neohesperidin-dihydrochalcon



2001



$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_{15}$

$M_r$  612,58

CAS 20702-77-6

Je to 1-{4-[[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy]-2,6-dihydroxyfenyl}-3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)propan-1-on<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 96,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>15</sub>.

### Vlastnosti

*Vzhled.* Bílý nebo žlutobílý prášek.

*Rozpustnost.* Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dimethylsulfoxidu, dobře rozpustný v methanolu a prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

### Zkoušky totožnosti

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

*Porovnání s neohesperidin-dihydrochalkonem CRL.*

**B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu.

*Hodnocení.* Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá hlavní pík velikostí a retenčním časem hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** Měří se roztok připravený takto: 0,25 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 25 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>4</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok (a).* 0,10 g se rozpustí v *dimethylsulfoxidu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 10,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *dimethylsulfoxidem R* na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50,0 mg *neohesperidin-dihydrochalkonu CRL* se rozpustí v *dimethylsulfoxidu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 4,0 mg *neohesperidin-dihydrochalkonu nečistoty B CRL* se rozpustí v *dimethylsulfoxidu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *dimethylsulfoxidem R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* Je-li nečistota F a nečistota G připravována *in situ*, suspenduje se 0,10 g zkoušené látky v 10,0 ml roztoku *kyseliny sírové R* (100 g/l). Vzorek se 5 min zahřívá na vodní lázni. V čas potřeby se 1,0 ml výsledného roztoku zředí *dimethylsulfoxidem R* na 50,0 ml.

*Kolona:*

- *rozměry:* délka 0,15 m, vnitřní průměr (*d*) 3,9 mm;

- *stacionární fáze:* sférický silikagel oktadecylsilanizovaný pro chromatografii *R* (4  $\mu$ m) s obsahem uhlíku 7 %;

- *teplota:* 30 °C.

*Mobilní fáze.* Směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku připraveného přidáním 5,0 ml *kyseliny octové ledové R* k 1000,0 ml *vody R* (20 + 80).

*Průtoková rychlost.* 1,0 ml/min.

*Detekce.* Spektrofotometr, 282 nm.

*Nástřik.* Po 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku (a) a porovnávacích roztoků (a), (b), (c) a (d).

*Doba záznamu.* Pětinásobek retenčního času neohesperidin-dihydrochalkonu, který je asi 10 min.

*Relativní retenční časy* vztažené na neohesperidin-dihydrochalkon:

- nečistota B: asi 0,4;

- nečistota D: asi 0,7;

- nečistota F: asi 1,2;

- nečistota G: asi 3,7.

---

<sup>1)</sup> 1-(4-{[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy}-2,6-dihydroxyfenyl)-3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)propan-1-on

*Test způsobilosti systému:*

- rozlišení: nejméně 2,5 mezi prvním píkem (neohesperidin-dihydrochalcon) a druhým píkem (nečistota F) na chromatogramu porovnávacího roztoku (d);
- chromatogram porovnávacího roztoku (a) odpovídá chromatogramu *neohesperidin-dihydrochalkonu CRL*.

*Limity:*

- nečistota B: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %);
- nečistota D: nejvýše dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (2 %);
- jakákoliv další nečistota: nejvýše 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %);
- celkový obsah nečistot, kromě nečistoty B: nejvýše 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (2,5 %);
- zanedbatelnost píků: nejvýše 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,05 %).

**Těžké kovy** (2.4.8). Nejvýše 10 µg/g; 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy. K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 12,0 %; stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Stanovení obsahu**

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Příbuzné látky.

**Nástřík**. 10 µl; nastříkuje se zkoušený roztok (b) a porovnávací roztoky (a) a (d).

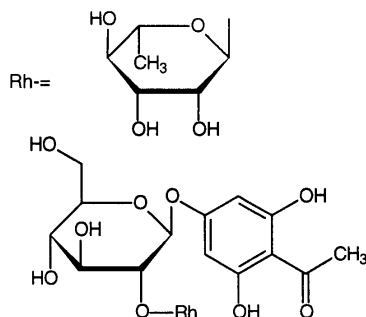
*Test způsobilosti systému:*

- rozlišení: nejméně 2,5 mezi prvním píkem (neohesperidin-dihydrochalcon) a druhým píkem (nečistota F) na chromatogramu porovnávacího roztoku (d);
- opakovatelnost: porovnávací roztok (a).

Vypočítá se obsah C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>15</sub> v procentech za použití chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a deklarovaného obsahu C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>15</sub> v *neohesperidin-dihydrochalkonu CRL*. Provede se korekce na obsah vody ve zkoušené látce.

**Uchovávání**

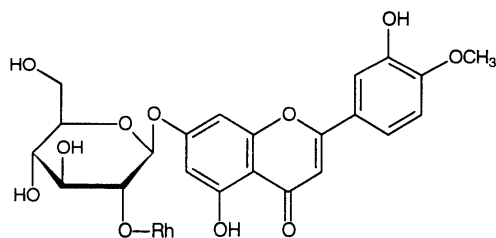
Chráněn před světlem.

**Nečistoty**

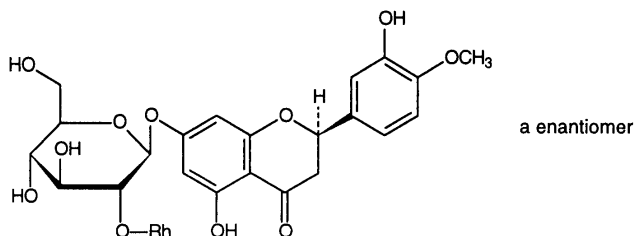
A. 1-{4-[[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy]-2,6-dihydroxyfenyl}ethanon<sup>2)</sup> (floroacetofenon-neohesperidosid),

<sup>2)</sup> 1-(4-{[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy}-2,6-dihydroxyfenyl)ethan-1-on

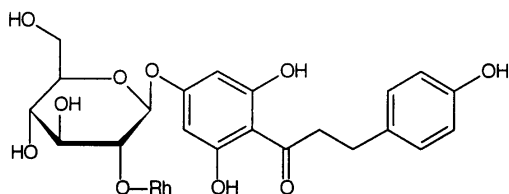




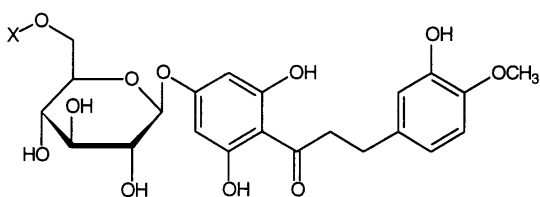
- B. 7-[[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy]-5-hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)-4*H*-chromen-4-on<sup>3)</sup> (neodiosmin),



- C. (2*RS*)-7-[[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy]-5-hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)-2,3-dihydro-4*H*-chromen-4-on<sup>4)</sup> (neohesperidin),



- D. 1-{4-[[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy]-2,6-dihydroxyfenyl}-3-(4-hydroxyfenyl)propan-1-on<sup>5)</sup> (naringin-dihydrochalkon),



- E. X = Rh: 1-{4-[[6-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy]-2,6-dihydroxyfenyl}-3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)propan-1-on<sup>6)</sup> (hesperidin-dihydrochalkon),

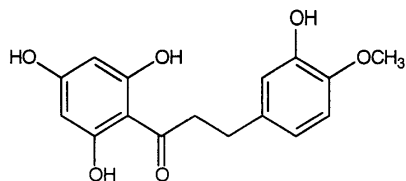
<sup>3)</sup> 7-[[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy]-5-hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)-4*H*-chromen-4-on

<sup>4)</sup> (2*RS*)-7-[[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy]-5-hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)-2,3-dihydro-4*H*-chromen-4-on

<sup>5)</sup> 1-(4-[[2-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy]-2,6-dihydroxyfenyl)-3-(4-hydroxyfenyl)propan-1-on

<sup>6)</sup> 1-(4-[[6-O-(6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl)- $\beta$ -D-glukopyranosyl]oxy]-2,6-dihydroxyfenyl)-3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)propan-1-on

F. X = H: 1-[4-(β-D-glukopyranosyloxy)-2,6-dihydroxyfenyl]-3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)propan-1-on (hesperetin-dihydrochalkon-7'-glukosid),



G. 3-(3-hydroxy-4-methoxyfenyl)-1-(2,4,6-trihydroxyfenyl)propan-1-on (hesperetin-dihydrochalkon).

“

139. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Nifedipinum doplňuje článek Nimesulidum, který zní:

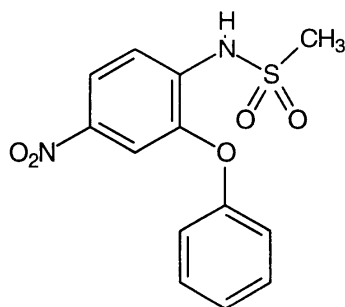
”

## † Nimesulidum

Nimesulid



2001



$C_{13}H_{12}N_2O_5S$

$M_r$  308,31

CAS 51803-78-2

Je to N-(2-fenoxy-4-nitrofenyl)methansulfonamid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ .

### Vlastnosti

*Vzhled.* Nažloutlý krystalický prášek.

*Rozpustnost.* Prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a těžce rozpustný v ethanolu.

Taje při asi 149 °C.

<sup>1)</sup> N-(2-fenoxy-4-nitrofenyl)methansulfonamid

Vykazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

*Porovnání s nimesulidem CRL.*

*Příprava.* Měří se látky ve formě tablet.

Pokud se získaná spektra liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v *acetonu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

### Zkoušky na čistotu

**Absorbance** (2.2.25). Nejvýše 0,50 při 450 nm; měří se roztok připravený takto: 1,0 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 20 mg se rozpustí v 8 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg *nimesulidu nečistoty C CRL* a 10 mg *nimesulidu nečistoty D CRL* se rozpustí v 20 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Kolona:*

- *rozměry:* délka 0,125 m, vnitřní průměr 4,0 mm,

- *stacionární fáze:* silikagel oktadecylsilanizovaný pro chromatografii *R*.

*Mobilní fáze.* Připraví se směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (1,15 g/l), jehož pH bylo upraveno *amoniakem 17,5 % RS* na hodnotu 7,0 (35 + 65).

*Průtoková rychlost.* 1,3 ml/min.

*Detekce.* Spektrofotometr, 230 nm.

*Nástřik.* Po 20 µl každého roztoku.

*Doba záznamu.* Sedminásobek retenčního času nimesulidu.

*Test způsobilosti systému:*

- *rozlišení:* nejméně 2,0 mezi dvěma hlavními píky na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

*Limity:*

- *jakákoliv nečistota:* nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %),

- *celkový obsah všech nečistot:* nejvýše pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %),

- *zanedbatelnost píků:* 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,01 %).

**Těžké kovy** (2.4.8). Nejvýše 20 µg/g; 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce D. Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg *Pb/ml*).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 4 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

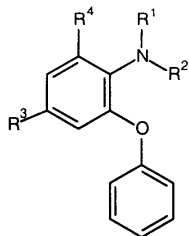
0,240 g se rozpustí ve 30 ml *acetonu R* předem zneutralizovaného, přidá se 20 ml *vody R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 30,83 mg  $C_{13}H_{12}N_2O_5S$ .

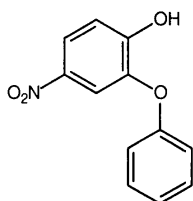
### Uchovávání

Separandum.

## Nečistoty



- A.  $R^1 = \text{SO}_2\text{-CH}_3$ ,  $R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = R^4 = \text{NO}_2$ : N-(6-fenoxy-2,4-dinitrofenyl)methansulfonamid<sup>2)</sup>,  
 B.  $R^1 = \text{SO}_2\text{-CH}_3$ ,  $R^2 = R^3 = R^4 = \text{H}$ : N-(2-fenoxyfenyl)methansulfonamid<sup>3)</sup>,  
 E.  $R^1 = R^2 = \text{SO}_2\text{-CH}_3$ ,  $R^3 = R^4 = \text{H}$ : N-(2-fenoxyfenyl)bis(methansulfonyl)imid<sup>4)</sup>,  
 C.  $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = \text{H}$ : 2-fenoxyanilin,  
 D.  $R^1 = R^2 = R^4 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{NO}_2$ : 2-fenoxy-4-nitroanilin,  
 F.  $R^1 = R^2 = \text{SO}_2\text{-CH}_3$ ,  $R^3 = \text{NO}_2$ ,  $R^4 = \text{H}$ : N-(2-fenoxy-4-nitrofenyl)bis(methansulfonyl)imid<sup>5)</sup>,



- G. 2-fenoxy-4-nitrofenol.

“

140. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Nitrofurantoinum doplňuje článek Nitrogenii oxidum (NO), který zní:

”

## Nitrogenii oxidum

Oxid dusnatý



NO  $M_r$  30,01 CAS 10102-43-9

Obsahuje nejméně 99,0 % (V/V) sloučeniny NO.

<sup>2)</sup> N-(6-fenoxy-2,4-dinitrofenyl)methansulfonamid

<sup>3)</sup> N-(2-fenoxyfenyl)methansulfonamid

<sup>4)</sup> N-(2-fenoxyfenyl)bis(methansulfonyl)imid

<sup>5)</sup> N-(2-fenoxy-4-nitrofenyl)bis(methansulfonyl)imid

## Vlastnosti

Bezbarvý plyn, který hnědne, je-li vystaven vlivu vzduchu. Při teplotě 20 °C a tlaku 101 kPa se 1 objemový díl plynu rozpustí v asi 21 objemových dílech vody.

## Výroba

**Oxid uhličitý.** Nejvýše 3000 ml/m<sup>3</sup>; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

*Zkoušený plyn.* Zkoušená látka.

*Porovnávací plyn.* Použije se směs obsahující 3000 ml/m<sup>3</sup> oxidu uhličitého R1 v dusíku R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 3,5 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné ethylvinylbenzen-divinylbenzenem kopolymerem R,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 15 ml/min,
- tepelně vodivostního detektoru,
- injektorové smyčky.

Teplota kolony se udržuje na 50 °C.

Nastříkne se zkoušený plyn a porovnávací plyn. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaných chromatogramech jsou zřetelně odděleny píky oxidu uhličitého a oxidu dusnatého.

Obsah oxidu uhličitého ve zkoušeném plynu se vypočítá za použití plochy píky oxidu uhličitého na chromatogramu porovnávacího plynu.

**Dusík.** Nejvýše 3000 ml/m<sup>3</sup>; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

*Zkoušený plyn.* Zkoušená látka.

*Porovnávací plyn.* Směs obsahující 3000 ml/m<sup>3</sup> dusíku R v heliu pro chromatografii R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 3,5 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné molekulárním sítím pro chromatografii R (0,5 nm),
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 15 ml/min,
- tepelně vodivostního detektoru,
- injektorové smyčky.

Teplota kolony se udržuje na 50 °C.

Nastříkne se zkoušený plyn a porovnávací plyn. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaných chromatogramech jsou zřetelně odděleny píky dusíku a oxidu dusnatého.

Obsah dusíku ve zkoušeném plynu se vypočítá za použití plochy píky dusíku na chromatogramu porovnávacího plynu.

**Oxid dusičitý.** Nejvýše 400 ml/m<sup>3</sup>; stanoví se za použití absorpčního spektrofotometru pro měření v ultrafialové oblasti spektra.

*Zkoušený plyn.* Zkoušená látka.

*Porovnávací plyn (a).* Dusík R1.

*Porovnávací plyn (b).* Směs obsahující 400 ml/m<sup>3</sup> oxidu dusičitého R v dusíku R.

Zařízení se skládá ze:

- zdroje ultrafialového až viditelného světla (analytické vlnové délky asi 400 nm),
- měrné průtokové plynové kyvety pro zkoušený plyn,
- uzavíratelné referenční plynové kyvety, obsahující dusík R1, která je paralelní s měrnou kyvetou,
- rotujícího přerušovače, umožňujícího střídavě vést světlo na měrnou kyvetu a referenční kyvetu,
- polovodičového detektoru, generujícího frekvenčně modulovaný výstup, jehož amplituda je mírou rozdílu absorpce měrné kyvety a referenční kyvety.

Postup se provádí následujícím způsobem:

- nastaví se nulová hodnota přístroje porovnávacím plynem (a) v měrné kyvetě; průtoková rychlost je 1 l/min,
- nastaví se rozsah protékajícím porovnávacím plynem (b) měrnou kyvetou; průtoková rychlost je 1 l/min,

- zkoušený plyn se nechá procházet měrnou kyvetou při průtokové rychlosti 1 l/min, odečte se hodnota z výstupu přístroje a je-li třeba, vypočítá se koncentrace oxidu dusičitého.

**Oxid dusný.** Nejvýše 3000 ml/m<sup>3</sup>. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

*Zkoušený plyn.* Zkoušená látka.

*Porovnávací plyn.* Použije se směs obsahující 3000 ml/m<sup>3</sup> oxidu dusného R a dusíku R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 3,5 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *ethylvinylbenzen-divinylbenzen kopolymerem R*.
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 15 ml/min,
- tepelně vodivostního detektoru,
- injektorové smyčky.

Teplota kolony se udržuje na 50 °C.

Nastříkne se zkoušený plyn a porovnávací plyn. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaných chromatogramech jsou zřetelně odděleny píky oxidu dusného a oxidu dusnatého.

Obsah oxidu dusného ve zkoušeném plynu se vypočítá z plochy píku oxidu dusného na chromatogramu porovnávacího plynu.

**Voda.** Nejvýše 100 ml/m<sup>3</sup>; stanoví se za použití elektrolytického hygrometru (2.5.28).

**Stanovení obsahu.** Obsah oxidu dusnatého se vypočítá po odečtení zjištěného součtu nečistot popsanych v odstavci Výroba za použití rovnice hmotnostní rovnováhy.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) odpovídá *referenčnímu spektru Ph. Eur. oxidu dusnatého*.

### Uchovávání

Zlatačený při tlaku nepřevyšujícím 2,5 MPa měřeném při 15 °C, ve vhodných obalech vyhovujících ČSN 07 8510 nebo ČSN EN 1089-3.

### Nečistoty

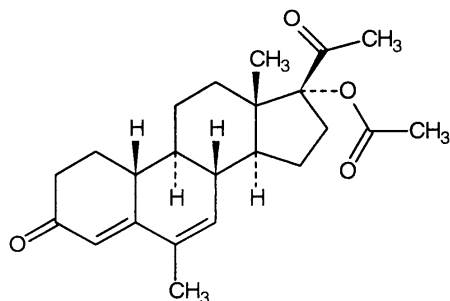
- A. oxid uhličitý,
- B. dusík,
- C. oxid dusičitý,
- D. oxid dusný,
- E. voda.

141. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Nizatidinum doplňuje článek Nomegestrol acetat, který zní:

”

## † Nomegestrol acetat

Nomegestrolacetat

 $C_{23}H_{30}O_4$  $M_r$  370,48

CAS 58652-20-3

Je to 6-methyl-3,20-dioxo-19-norpregna-4,6-dien-17-yl-acetat<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny  $C_{23}H_{30}O_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, dobře rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *nomegestrolacetatu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 1,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. Tento roztok 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).  $-60,0^\circ$  až  $-64,0^\circ$ , počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,500 g v *ethanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 25,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 200,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 25,0 mg *nomegestrolacetatu nečistoty A CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 25,0 mg *nomegestrolacetatu CRL* se rozpustí ve 20 ml *methanolu R*, přidá se 0,25 ml porovnávacího roztoku (b) a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),

<sup>1)</sup> 6-methyl-3,20-dioxo-19-norpregna-4,6-dien-17-yl-acetát

- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R*, *methanolu R* a *vody R* (24 + 38 + 38); průtoková rychlost je 1,3 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru s proměnlivou vlnovou délkou, nastaveného na 245 nm a 290 nm.

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c) a chromatogram se zaznamená s detektorem nastaveným na 245 nm. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: nomegestrolacetatu asi 17 min a nečistoty A asi 18,5 min. Citlivost systému při 245 nm se nastaví tak, aby výška píku nečistoty A na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Změří se výška  $h_p$  nad základní linií píku nečistoty A a výška  $h_v$  nad základní linií nejnižšího bodu křivky oddělující tento pík od píku nomegestroliumacetatu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže výška  $h_p$  je větší než pětinašobek výšky  $h_v$ .

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a) a zaznamená se chromatogram s detektorem nastaveným na 290 nm. Citlivost systému při 290 nm se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku a zaznamenají se chromatogramy při 245 nm a 290 nm po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času hlavního píku.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku při 290 nm plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,04násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,02 %). Na chromatogramu zkoušeného roztoku při 245 nm plocha žádného píku odpovídajícího nečistotě A není větší než 0,4násobek plochy píku nečistoty A na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,2 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího nečistotě A, není větší než 0,2násobek plochy píku nečistoty A na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy píku nečistoty A na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,05 %).

Na chromatogramech získaných při 290 nm a 245 nm součet příbuzných látek, kromě nečistoty A, není větší než 0,3 %.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

## Stanovení obsahu

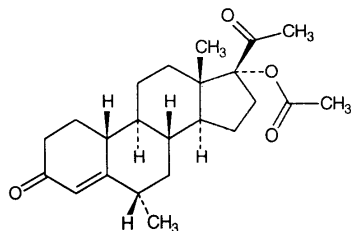
50,0 mg se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 287 nm.

Obsah  $C_{23}H_{30}O_4$  se vypočítá za použití specifické absorbance, která má hodnotu 685.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

## Nečistoty



A. 6 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxo-19-norpregn-4-en-17-yl-acetat<sup>2)</sup>.

“

<sup>2)</sup> 6 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxo-19-norpregn-4-en-17-yl-acetát



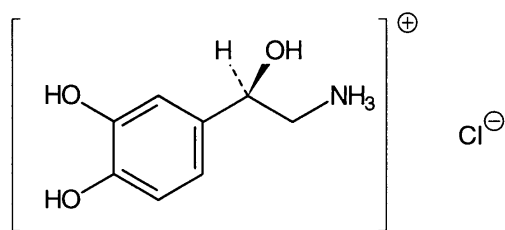
142. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Norepinephrini hydrochloridum zní:

”

## †† Norepinephrini hydrochloridum

Norepinefriniumchlorid

*Synonymum.* Noradrenalini hydrochloridum



$C_8H_{12}ClNO_3$

$M_r$  205,64

CAS 329-56-6

Je to (*R*)-2-hydroxy-2-(3,4-dihydroxyfenyl)ethylamoniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_8H_{12}ClNO_3$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo hnědavě bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%. Působením vzduchu a světla se zbarvuje.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, D a F.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, C, E a F, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

**B.** Teplota tání (2.2.16). 177 °C až 179 °C.

**C.** 50,0 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS* a zředí se jí na 100,0 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 250 nm až 300 nm. Roztok vykazuje absorpční maximum při 279 nm. Specifická absorbance v maximu je 128 až 136.

**D.** 2 g se rozpustí ve 20 ml roztoku *disiřičitanu sodného R* (5 g/l) a zalkalizují se přidáním *amoniaku 17,5% R*. Chladí se 1 h ve vodě s ledem a zfiltruje se. Sraženina se promyje třikrát se 2 ml *vody R*, 5 ml *lihu 96% R* a nakonec 5 ml *etheru R* a suší se 3 h ve vakuu. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety takto izolované báze norepinefrinu odpovídá spektru tablety báze norepinefrinu stejným způsobem izolované z *norepinefriniumhydrogentartaratu CRL*.

**E.** K 1 ml roztoku zkoušené látky (1 g/l) se přidá 1 ml roztoku *diethoxytetrahydrofuranu R* 1% (V/V) v *kyselině octové ledové R* a zahřívá se 2 min při 80 °C. Po ochlazení ve vodě s ledem se přidají 3 ml roztoku *dimethylaminobenzaldehydu R* (20 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *kyseliny octové ledové R* (1 + 19), zamíchá se a 2 min se nechá stát; roztok se zbarví intenzivně růžově.

<sup>1)</sup> (*R*)-2-hydroxy-2-(3,4-dihydroxyfenyl)ethylamonium-chlorid

F. 0,2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,500 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25,0 ml.

**Vzhled roztoku.** 0,2 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 10 ml. Roztok se hodnotí ihned po přípravě. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než roztok připravený za použití směsi 0,2 ml základního barevného roztoku modrého, 0,4 ml základního barevného roztoku žlutého, 0,4 ml základního barevného roztoku červeného a 9 ml kyseliny chlorovodíkové (10 g/l HCl) (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,5 až 4,5; měří se roztok S.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-37^{\circ}$  až  $-41^{\circ}$ , počítáno na bezvodou látku; měří se roztok S.

**Noradrenalon.** 30,0 mg se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí na 25,0 ml. Absorbance (2.2.25) roztoku měřená při 310 nm není větší než 0,20 (0,12 %).

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

**Zkoušený roztok.** 0,15 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml. Roztok se připraví těsně před použitím.

**Porovnávací roztok (a).** 12,5 mg epinefriniumhydrogentartaratu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml. Roztok se připraví těsně před použitím.

**Porovnávací roztok (b).** 2 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 2 ml zkoušeného roztoku se smíchají se 2 ml porovnávacího roztoku (b).

Na vrstvu se odděleně do proužků (20 mm × 2 mm) nanese 6 μl zkoušeného roztoku, 6 μl porovnávacího roztoku (a), 6 μl porovnávacího roztoku (b) a 12 μl porovnávacího roztoku (c). Usuší se na vzduchu a potom se proužky postříkají nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného R. Vrstva se usuší na vzduchu, proužky se dvakrát postříkají acetanhydridem R, přičemž se mezi postříky usuší. Vrstva se zahřívá 90 min při 50 °C a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé R, acetonu R a dichlormethanu R (0,5 + 50 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se čerstvě připravenou směsí objemových dílů ethylendiaminu R, methanolu R a roztoku hexakynoželezitanu draselného R (5 g/l) (2 + 8 + 2). Vrstva se suší 10 min při 60 °C a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm a 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna umístěná těsně nad hlavní skvrnou není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,7 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) nad hlavní skvrnou je zřetelně oddělená skvrna, odpovídající nejintenzivnější skvrně 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 0,50 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,180 g se rozpustí v 50 ml acetanhydridu R, přidá se 10 ml kyseliny mravenčí 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 20,56 mg  $C_8H_{12}ClNO_3$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech nebo přednostně v zatavené ampulce ve vakuu nebo pod inertním plynem, chráněn před světlem.

Venenum.

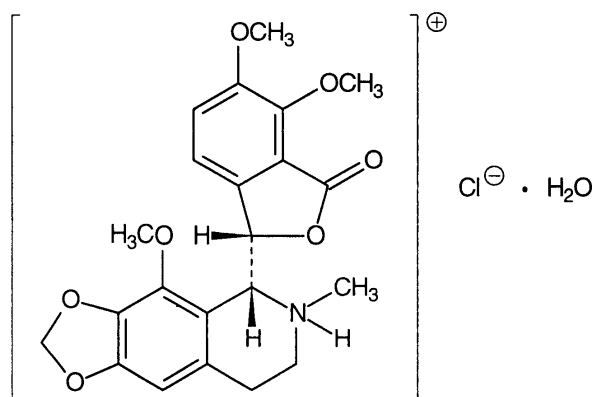
143. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Noscapini hydrochloridum zní:

”

## † Noscapini hydrochloridum monohydricum

Monohydrát noscapiniumchloridu

*Synonymum.* Noscapini hydrochloridum



$C_{22}H_{24}ClNO_7 \cdot H_2O$

$M_r$  467,90

CAS 912-60-7

$M_i$  bezvodého 449,89

Je to monohydrát (1*R*)-8-methoxy-1-[(3*S*)-(6,7-dimethoxy)ftalidyl]-6,7-methylenedioxy-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinoliniumchloridu<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 100,5 % sloučeniny  $C_{22}H_{24}ClNO_7$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%. Vodné roztoky jsou slabě kyselé. Během stání se může vysrážet báze.

Taje při teplotě asi 200 °C, za rozkladu.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

**B.** 50 mg se rozpustí v *methanolu R* obsahujícím  $NH_3$  (17  $\mu g/g$ ) a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* obsahujícím  $NH_3$  (17  $\mu g/g$ ) na 10,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) roztoku při 250 nm až 350 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima: při 291 nm a 310 nm. Poměr absorbance v maximu při 310 nm k absorbanci v maximu při 291 nm je 1,2 až 1,3.

<sup>1)</sup> monohydrát (1*R*)-8-methoxy-1-[(3*S*)-(6,7-dimethoxy)ftalidyl]-6,7-methylenedioxy-2-methyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-2-ium-chloridu

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) sraženiny získané ve zkoušce E odpovídá spektru *noskapinu CRL*.

D. Sraženina získaná ve zkoušce totožnosti E taje (2.2.14) při 174 °C až 177 °C.

E. Asi 40 mg se rozpustí ve směsi 2 ml *vody R* a 3 ml *lihu 96% R*, přidá se 1 ml *amoniaku, zředěného RS2* a směs se zahřívá do úplného rozpuštění. Potom se ochladí za tření skleněnou tyčinkou o stěnu zkumavky a zfiltruje se. Filtrát vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1). Sraženina se promyje *vodou R*, vysuší se při 100 °C až 105 °C a uchová se pro zkoušky totožnosti C a D.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,5 g se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 0,3 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 25 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $\check{Z}_6$  nebo  $H\check{Z}_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). Nejméně 3,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,2 g v 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +38,5° až +44,0°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,500 g v *kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** 0,25 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

**Porovnávací roztok.** 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100 ml.

Na vrstvu se nanese po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *lihu 96% R*, *acetonu R* a *toluenu R* (1 + 3 + 20 + 20) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu vzduchu a postříká se *jodobismutitanem draselným zředěným RS*. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). 2,5 % až 6,5 %; 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.

### Stanovení obsahu

0,400 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 50 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 44,99 mg  $C_{22}H_{24}ClNO_7$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

144. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Nystatinum doplňuje článek Octoxinolum 10, který zní:

”

## Octoxinolum 10

Oktoxinol 10

 $C_{14}H_{21}-[C_2H_4O]_n-OH$ 

CAS 9002-93-1

Je to bezvodá tekutá směs obsahující hlavně monooktylfenylethery makrogolů obecného vzorce:  $C_{14}H_{21}-[OCH_2-CH_2]_n-OH$ , kde průměrná hodnota  $n$  je 10, ale může být 5 až 15. Může obsahovat volné makrogoly. Obsahuje 97,0 % až 105,0 % sloučeniny vyjádřené jako  $\alpha$ -[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)fenyl]- $\omega$ -hydroxydeka(oxyethylen).

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá až světležlutá viskózní kapalina, mísitelná s vodou, ethanolem a rostlinnými oleji.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *oktoxinolu 10 CRL*.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ze Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá přibližně retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** 1,0 g se vaří za plynulého míchání 1 min ve 20 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. Ochladí se a zfiltruje se. K 10 ml tohoto filtrátu se přidá 0,05 ml *modři bromthymolové RS1*. Ke změně 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*.

**Číslo hydroxylové (2.5.3, Metoda A).** 85 až 101.

**Bod zakalení.** 63 °C až 69 °C. 1,0 g se rozpustí v 99 g *vody R*. Asi 30 ml tohoto roztoku se převede do zkumavky a zahřívá se ve vodní lázni za plynulého míchání skleněnou tyčinkou 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. Bod zakalení je teplota, při které se roztok dostatečně vyčeří.

**Zbytkový 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.

**Těžké kovy (2.4.8).** 10,0 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 100,0 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního *roztoku olova (1 µg Pb/ml)*.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,4 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,250 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 0,250 mg *oktoxinolu 10 CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

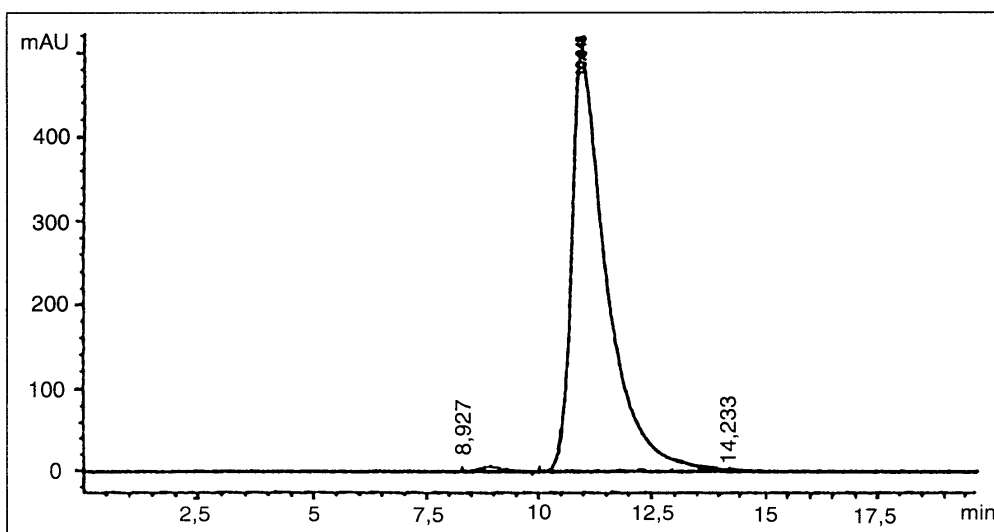
Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu\text{m}$ ),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (20 + 80); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Nastříkne se 10  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 10  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku. Oligomery *oktoxinolu* eluují jako hlavní pík, často s prodlevami a nepravidelnostmi, viz obr. 1. Měří se plocha píku odpovídajícího *oktoxinolu 10*, včetně prodlev a nepravidelností. Z plochy píku zkoušeného roztoku a deklarovaného obsahu *oktoxinolu 10 CRL* se vypočítá procentuální obsah *oktoxinolu 10*.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.



**Obr. 1** Chromatogram pro stanovení obsahu

145. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Ofloxacinum doplňuje článek Olea plantarum pinguia, který zní:

”

## Olea plantarum pinguia

Rostlinné mastné oleje



Jsou to převážně tuhé nebo tekuté triacylglyceroly mastných kyselin. Mohou obsahovat malá množství dalších lipidů, jako jsou vosky, volné mastné kyseliny, parciální acylglyceroly nebo nezmýdelnitelné látky. Rostlinné mastné oleje se získávají ze semen, plodů nebo jader různých rostlin lisováním a/nebo extrakcí, následně mohou být čištěny a hydrogenovány. Pokud je nezbytné, může být přidána vhodná antioxidační přísada.

*Panenský olej*: olej získaný z čerstvé drogy vysoké kvality mechanickými postupy (např. lisováním za studena nebo odstředováním).

*Čištěný olej*: olej získaný lisováním a/nebo extrakcí rozpouštědlem a následně buď alkalickým přečištěním (následované bělením a dezodorací), nebo fyzikálním přečištěním.

*Hydrogenovaný olej*: olej získaný lisováním a/nebo extrakcí rozpouštědlem a následně buď alkalicky, nebo fyzikálně přečištěný, případně bělený, následně sušený, hydrogenovaný a dále bělený a dezodorizovaný.

Pro výrobu parenterálních lékových forem se používají pouze oleje čištěné kyselinou fosforečnou a alkalicky.

### Výroba

#### PŘÍPRAVA SUROVÉHO OLEJE

Pokud má rostlina vysoký obsah oleje, získává se olej obvykle lisováním za tepla s následnou extrakcí; pokud je obsah oleje nízký, získává se olej obvykle přímou extrakcí.

### Mechanické postupy

#### A. Lisování

*Lisování šnekovým lisem za vysokého tlaku* se skládá z některých nebo všech následujících kroků: čištění, sušení, loupání (odstranění obalných pletiv semene), mletí, vaření a vložkování.

Během *čištění* se odstraní cizí příměsi. *Sušení* je nezbytné, jestliže vlhkost semen je vyšší, než je žádoucí pro plynulé zpracování. *Loupání (odstranění obalných pletiv semene)* slouží k získání drti bohaté na bílkoviny snížením obsahu vlákniny a ke snížení obsahu nečistot v oleji. *Vaření* slouží různým účelům: ke kompletnímu rozpadu buněk s obsahem oleje, ke snížení viskozity oleje, ke koagulaci bílkovin v drti, k úpravě vlhkosti, ke sterilizaci semen, k detoxikaci nežádoucích složek obsahových látek (gossypol v bavlníkových semenech), ke stabilizaci některých fosfolipidů v drti a tak ke snížení ztrát následným přečištěním. Účinnost tohoto postupu je taková, že pouze 3 % až 6 % oleje zůstává v drti.

*Lisování šnekovým lisem za mokra*. Hrozny plodů (palmové plody) se umístí do koše a vloží se do horizontálního sterilizátoru, kde se vystaví účinkům páry a teploty. Účelem sterilizace je inaktivace enzymů, uvolnění plodů z hroznů, koagulace bílkovin apod. Po zahřátí v autoklávu se drť dodává do šnekového lisu. Olej se vyčeří odstředěním a vakuově vysuší.

*Předlisování následované extrakcí rozpouštědlem*. Postupuje se ve stejném pořadí, jak je uvedeno výše. Hlavní funkcí předlisování, je získání drti s vynikající propustností pro následující stadium extrakce rozpouštědlem. Extrakce se provádí buď v perkolátoru, nebo v zařízení pro ponornou extrakci. Účinnost extrakce je taková, že pouze 1 % zbytkového oleje zůstává v drti.

#### B. Odstředování

Odděluje olejovou fázi od fáze, která obsahuje vodu, ve vodě rozpustné složky a zbytky pevných částic. Tento postup se může provádět za použití:

- samočisticí kádě nebo talířové odstředivky,
- super-dekantérů, kterými jsou vodorovné turbíny vybavené válcovitou kádí, mírně se zužující na jednom konci a plynule se otáčejícím šroubem, který seškrabává stěny kádě. Šroub a kád' se otáčejí rozdílnými rychlostmi. Pevné částice se odstraňují zúženým koncem kádě a druhým koncem vytéká olej.

## Extrakce rozpouštědlem

Před extrakcí se provádějí následující kroky: semena se udržují asi jeden týden při teplotě nižší než 24 °C tak, aby se uvolnily slupky ze semen a bylo možné dosáhnout stejnoměrné vlhkosti semene. Potom se semena čistí, melou, loupají a navločkují. Nejčastěji používaným rozpouštědlem je směs obsahující hlavně n-hexan a methylpentany (TV: 65 °C až 70 °C), obecně označovaná jako „hexan“. Vzhledem k většímu nebezpečí požáru a výbuchu této směsi mohou být použity i metody využívající zkpalné plyny a superkritické plyny.

### ČIŠTĚNÍ

Cílem čištění je odstranění nečistot a látek znečišťujících oleje při co nejmenším poškození triacylglycerolů a minimální ztrátě oleje. Snižuje se obsah následujících látek:

- volných mastných kyselin, které mohou způsobit znehodnocení oleje oxidací, nevhodnou kouřovou chutí po zahřátí a ostrým pachem (při alkalickém čištění),
- vody, která podporuje enzymatické hydrolytické reakce (při alkalickém čištění a sušení),
- parciálních acylglycerolů, které mohou způsobit pění a hořkou chuť (při neutralizaci a praní),
- fosfolipidů a fosforečných sloučenin, které mají emulgační vlastnosti, mohou způsobit sedlinu, tmavnutí oleje při zahřívání, zakalení a špatnou organoleptickou stabilitu (při alkalickém čištění),
- barviv jako jsou chlorofyl (při alkalickém čištění) a karotenoidy (při bělení),
- glykolipidů, které mohou tvořit koloidní roztoky s vodou,
- volných uhlovodíků, parafinu, vosků a pryskyřičných látek,
- kovů (Fe, Cu, Pb, Sn, Pt, Pd, apod.), které jsou silnými katalyzátory oxidace,
- pigmentů, jako je gossypol (v bavlníkovém oleji), nebo mykotoxiny, jako je aflatoxin (hlavně v podzemnicovém oleji),
- pesticidů,
- oxidačních produktů (aldehydy, peroxidy),
- bílkovin majících možné alergické reakce,
- nezmýdelnitelných látek (např. ligniny, steroly, tokoferoly a další vitaminy),
- polycyklických aromatických uhlovodíků.

**Alkalické čištění.** Zahrnuje tyto postupy: odstranění slizů, neutralizaci zásadami, praní a sušení.

*Odstranění slizů.* Během tohoto kroku čištění, tj. zpracováním vodou, a/nebo kyselinou fosforečnou, a/nebo chloridem sodným jsou vyloučeny fosfolipidy, fosforečné sloučeniny a kovy. Použití tohoto kroku závisí na povaze oleje.

*Alkalická neutralizace.* Tento krok snižuje obsah volných kyselin na méně než 0,1 %; mastné kyseliny jsou převedeny do mýdel nerozpustných v oleji a také další látky mohou být odstraněny adsorpcí na tato mýdla, jsou to: slizy, fosfolipidy, oxidační produkty, barviva apod. Všechny látky, které se stanou nerozpustné v oleji, se hydratací odstraní. Nevýhodou alkalické neutralizace je možnost zmydelnění části neutrálního oleje, zvláště není-li neutralizace dobře provedena.

*Praní.* Tento krok spočívá v odstranění nadbytku nejen mýdla a louhu, ale i zbývajících stop kovů, fosfolipidů a dalších nečistot za použití horké vody.

*Sušení.* Zbytková voda se před dalším zpracováním odstraní ve vakuu před dalšími kroky, jako např. bělení.

**Fyzikální čištění.** Zahrnuje zpracování oleje parou ve vysokém vakuu při teplotě vyšší než 235 °C. Tato technologie je použita u olejů s přirozeně nízkým obsahem fosfolipidů a kovů (palmový, kokosový a olivový olej) nebo u olejů, ze kterých byly fosfatidy a kovy odstraněny kyselinou fosforečnou a následně adsorpcí zpracovávány aktivovanou bělicí hlinkou (slunečnicový, řepkový a sójový olej). Tento postup však nelze použít u tepelně nestálých olejů (bavlníkový olej), které tmavnou.

**Bělení.** Obecná metoda bělení využívající adsorpce oleje obvykle zahřátého na 90 °C na bělicí přírodní nebo aktivovanou hlinku, nebo uhlí (aktivované nebo neaktivované) ve vakuu po dobu 30 min; mohou být také přidány syntetické křemičitanové adsorbenty. V tomto kroku jsou odstraněny látky, které nebyly zcela odstraněny během čištění, např. karotenoidy a chlorofyl.



**Dezodorace.** Odstraňují se pach, těkavé látky a zbytková extrakční rozpouštědla; provádí se zavedením přehřáté páry do oleje, který se udržuje ve vakuu při vysoké teplotě. Používají se různé teploty v závislosti na druhu oleje: 1 h 30 min až 3 h při 200 °C až 235 °C nebo 30 min při teplotě vyšší než 240 °C.

Jedna z významných vedlejších reakcí je tepelné odbarvení jako následek rozkladu karotenoidů při teplotě vyšší než 150 °C. Tato technologie přispívá ke ztrátě látek, které mohou být oddestilovány (volné mastné kyseliny, steroly, tokoferoly, část čištěného oleje) a může způsobit *cis-trans* izomeraci na dvojných vazbách nenasyčených mastných kyselin.

#### ČIŠTĚNÍ OCHLAZENÍM

Odstranění pevných částic a vosků filtrací za snížené teploty (nazývané též odvoskování). Tyto nežádoucí pevné částice a vosky mohou poškozovat vzhled oleje a být příčinou vzniku usazenin.

#### HYDROGENACE

Hydrogenace vysušeného a/nebo běleného oleje se provádí při teplotě 100 °C až 200 °C zaváděním vodíku pod tlakem za přítomnosti katalyzátoru (např. Ni, Pt, Pd). Katalyzátor se potom odstraní filtrací při 90 °C. Vodík musí být čistý, prostý katalyzátorových jedů, bezvodý, s nízkým obsahem oxidu uhličitého, methanu a dusíku. Může se získat malé množství *trans*-mastných kyselin nebo polymerů.

#### CHROMATOGRAFICKÉ ČIŠTĚNÍ

Pro použití vyžadující vysoké parametry čistoty, zejména parenterální použití se předpokládá další čištění oleje přes kolonu aktivní hlínky. Ke zlepšení účinnosti je možné použít rozpouštědla. Přednostně se odstraňují vysoce polární molekuly, jako jsou oxidované materiály, kyseliny, alkoholy, parciální acylglyceroly a volné steroly.

Je-li olej používán k přípravě parenterálních lékových forem, může mít odlišné limity pro číslo kyselosti, číslo peroxidové a obsah vody, než jsou uvedeny v článku.

#### Označování

V označení na obalu se uvede:

- kde je to vhodné, zda byl olej získán lisováním nebo extrakcí,
- kde je to vhodné, zda je olej vhodný pro výrobu parenterálních lékových forem,
- název a koncentrace přidané antioxidační přísady.

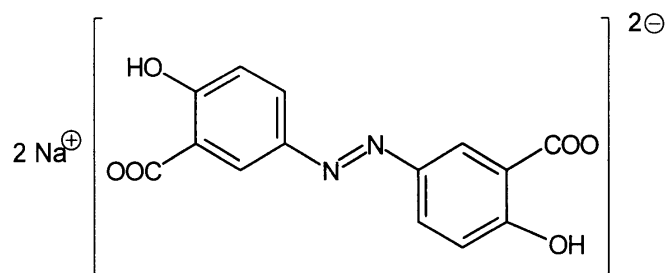
146. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Olsalazinum dinatricum zní:

”

## † Olsalazinum dinatricum

Disodná sůl olsalazinu

*Synonymum.* Olsalazinum natricum



$\text{C}_{14}\text{H}_8\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_6$

$M_r$  346,20

CAS 6054-98-4

Je to dinatrium-4,4'-dihydroxyazobenzen-3,3'-dikarboxylat<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou a octanů prostou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_6$ .

### 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 odpovídá spektru *disodné soli olsalazinu 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.** 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 *amoniaku zředěného RS2* a *lihu 96% R* (1 + 4) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

<sup>1)</sup> dinatrium-4,4'-dihydroxyazobenzen-3,3'-dikarboxylát

*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 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 nažedlého 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 %. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*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 filtrem vhodným k odstranění chloridů.

*Porovnávací roztok (a).* 0,140 g *octanu sodného R*, 0,150 g *mravenčanu sodného R* a 0,180 g *síranu draselného R* se rozpustí ve 100,0 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 pět porovnávacích roztoků o výsledné koncentraci octanu 10 µg/ml až 50 µg/ml.

Postup iontové vylučovací chromatografie se obvykle provádí za použití:

- separační kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 6 mm naplněné *pryskyřicí pro iontovou vylučovací chromatografii R* o kapacitě asi 27 mekv/kolonu,
- 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, ze které se odečte koncentrace octanů ve zkoušeném roztoku. Měří se plocha píku octanu. Vypočítá se obsah octanů v procentech podle vztahu:

$$\frac{2,6c}{m},$$

v němž značí:

- c* - koncentraci octanů ve zkoušeném roztoku (µg/ml) stanovenou lineární interpolací z kalibrační křivky porovnávacího roztoku (b),
- m* - navážku vzorku (mg).

**Kyselina methansulfonová;** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,25 mg se rozpustí ve 20 ml *vody R*, přidá se 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 25,0 ml. Odstředí se a potom se roztok zfiltruje filtrem 0,45 µm a také dalším filtrem vhodným k odstranění chloridů.

*Porovnávací roztok (a).* 0,25 g *kyseliny methansulfonové R* se rozpustí v 50 ml *vody R*. Přidá se 0,58 g *octanu sodného R* a 0,08 g *chloridu sodného R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 0,10 g *kyseliny methansulfonové R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. 3,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Postup iontové chromatografie s reverzními fázemi se obvykle provádí za použití:

- předkolony délky 0,035 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *pryskyřicí pro iontovou chromatografii s reverzními fázemi R* (10 µm),
- separační kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *pryskyřicí pro iontovou chromatografii s reverzními fázemi R* (10 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu pro chromatografii R* a roztoku *tetrabutylamoniumhydroxidů R* (1,6 g/l) a *uhličitanu sodného bezvodého R* (0,053 g/l) (10 + 990); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,

- vodivostního detektoru nastaveného na  $50 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

Nastříkne se 100  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu jsou tři oddělené píky. Nastříkne se 100  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 100  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího kyselině methansulfonové větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %).

**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 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  $\mu\text{m}$ ),

- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min a s následujícím gradientovým programem:

- *mobilní fáze A* - 2,38 g *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu 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 *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu 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  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a), citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$  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 nejvýše jednoho takového píku 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 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,025 %).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20  $\mu\text{g/g}$ ). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova (10  $\mu\text{g Pb/ml}$ )*.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 2,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 150 °C.

## Stanovení obsahu

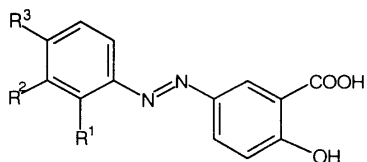
0,100 g se rozpustí v 15 ml *ethylenglykolu R*, přidá se 40 ml *dioxanu R*, 0,2 ml roztoku *chloridu draselného R* (224 g/l) a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Provede se slepá zkouška.

Nalezená spotřeba se upraví podle obsahu octanů. Molekulová hmotnost octanu je 59,0.

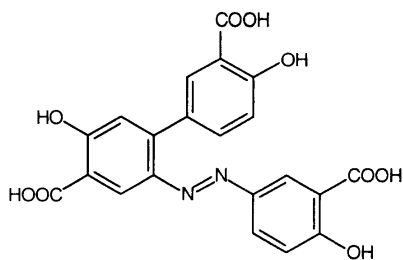
1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* odpovídá 17,31 mg  $\text{C}_{14}\text{H}_8\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_6$ .

**Uchovávání**

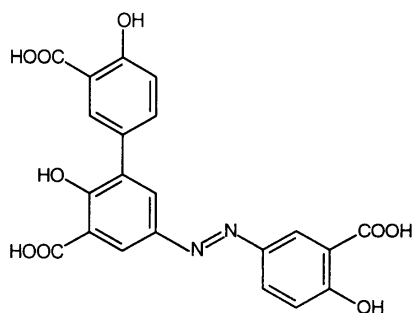
Separandum.

**Nečistoty**

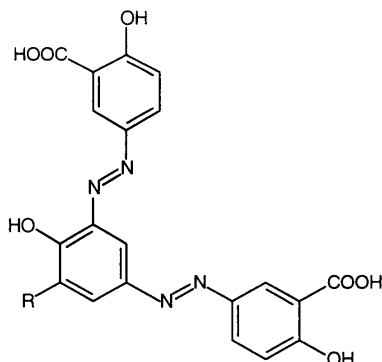
- A.  $R^1 = H$ ,  $R^2 = COOH$ ,  $R^3 = OCH_3$ : kyselina 4-hydroxy-4'-methoxyazobenzen-3,3'-dikarboxylová,  
 B.  $R^1 = OH$ ,  $R^2 = COOH$ ,  $R^3 = H$ : kyselina 2',4'-dihydroxyazobenzen-3,3'-dikarboxylová,  
 C.  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = OH$ : kyselina 4,4'-dihydroxyazobenzen-3-karboxylová,  
 D.  $R^1 = H$ ,  $R^2 = COOH$ ,  $R^3 = Cl$ : kyselina 4'-chlor-4-hydroxyazobenzen-3,3'-dikarboxylová,  
 E.  $R^1 = H$ ,  $R^2 = CO-CH_2-SO_3H$ ,  $R^3 = OH$ : 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. R = COOH: kyselina 4,4'-dihydroxy-3'-[(4-hydroxy-3-karboxyfenyl)azo]azobenzen-3,5'-dikarboxylová,

I. R = H: kyselina 4,4'-dihydroxy-3'-[(4-hydroxy-3-karboxyfenyl)azo]azobenzen-3-karboxylová.

“

147. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Omega-3-acidorum triglycerida zní:

”

## Omega-3-acidorum triglycerida

Triacylglyceroly omega-3-kyselin



2001

Je to směs mono-, di- a triesterů omega-3-kyselin s glycerolem obsahující převážně triestery. Získávají se buď esterifikací koncentrovaných a čištěných omega-3-kyselin s glycerolem, nebo transesterifikací ethylesterů omega-3-kyselin s glycerolem. Zdrojem omega-3-kyselin je olej získaný z těl tučných ryb, druhů patřících k čeledím jako jsou *Engraulidae*, *Carangidae*, *Clupeidae*, *Osmeridae*, *Salmonidae* a *Scrombroidae*. Jako omega-3-kyseliny se označují následující kyseliny: kyselina alfa-linolenová (C18:3 n-3), kyselina moroktová (C18:4 n-3), kyselina ikosatetraenová (C20:4 n-3), kyselina timnodonová (ikosapentaenová) (C20:5 n-3; EPA), kyselina henikosapentaenová (C21:5 n-3), kyselina klupanodonová (C22:5 n-3) a kyselina cervonová (dokosahexaenová) (C22:6 n-3; DHA). Koncentrace celkového množství omega-3-kyselin, vyjádřených jako triacylglyceroly, je nejméně 60,0 %. Součet koncentrací omega-3-kyselin EPA a DHA, vyjádřených jako triacylglyceroly, je nejméně 45,0 %.

Jako antioxidační přísada se může přidat tokoferol.

### Vlastnosti

Světle žlutá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, velmi snadno rozpustná v acetonu a v heptanu, těžce rozpustná v ethanolu.

### Zkouška totožnosti

Hodnotí se chromatogramy získané při stanovení obsahu EPA a DHA. Retenční čas a velikost píků odpovídajících methylesteru kyseliny ikosapentaenové a methylesteru kyseliny dokosahexaenové na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) přibližně odpovídají retenčnímu času a velikosti píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

## Zkoušky na čistotu

**Číslo kyselosti (2.5.1).** Nejvýše 3,0; titruje se roztok připravený rozpuštěním 10,0 g v 50 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Číslo anisidinové.** Nejvýše 30,0.

Číslo anisidinové je definováno jako 100násobek absorbance roztoku obsahujícího 1 g zkoušené látky ve 100 ml směsi rozpouštědel a zkoumadel, měřené v 1 cm kyvetě podle dále popsané metody.

*Zkouška se provádí co nejrychleji za ochrany před aktinickým světlem.*

*Zkoušený roztok (a).* 1,0 g se rozpustí v *trimethylpentanu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* K 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 1,0 ml roztoku *p-anisidinu R* (2,5 g/l) v *kyselině octové ledové R*, protřepe se a chrání před světlem.

*Porovnávací roztok.* K 5,0 ml *trimethylpentanu R* se přidá 1,0 ml roztoku *p-anisidinu R* (2,5 g/l) v *kyselině octové ledové R*, protřepe se a chrání před světlem.

Měří se absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku (a) při 350 nm za použití *trimethylpentanu R* jako kontrolní kapaliny. Měří se absorbance zkoušeného roztoku (b) při 350 nm přesně 10 min po jeho přípravě s použitím porovnávacího roztoku jako kontrolní kapaliny.

Číslo anisidinové se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{25 \cdot (1,2A_s - A_b)}{m},$$

v němž značí:

$A_s$  - absorbance zkoušeného roztoku (b),

$A_b$  - absorbance zkoušeného roztoku (a),

$m$  - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku (a) v gramech.

**Číslo peroxidové (2.5.5, Metoda A).** Nejvýše 10,0.

**Oligomery a parciální acylglyceroly.** Nejvýše 3,0 % oligomerů a nejvýše 50,0 % parciálních acylglycerolů. Proveďte se vylučovací chromatografie (2.2.30).

*Zkoušený roztok.* 10,0 mg se rozpustí v *tetrahydrofuranu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *styrendivinybenzen-kopolymerem R* (velikost pórů 10 nm, velikost částic 7  $\mu$ m) a dvou kolon délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněných *styrendivinybenzen-kopolymerem R* (velikost pórů 50 nm, velikost částic 7  $\mu$ m) (tyto kolony se umístí co nejbližší k dávkovači),
- *tetrahydrofuran R* jako mobilní fáze s průtokovou rychlostí 0,8 ml/min,
- diferenčního refraktometru jako detektoru.

Nastříkne se 40  $\mu$ l zkoušeného roztoku. Jednotlivé píky se určí podle vzorového chromatogramu (obr. 1).

Obsah oligomerů v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{B}{A} \cdot 100,$$

v němž značí:

$A$  - součet ploch všech píků na chromatogramu,

$B$  - plochu píku s retenčním časem menším, než je retenční čas píku triacylglycerolu.

Obsah parciálních acylglycerolů v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{C}{A} \cdot 100,$$

v němž značí:

$C$  - plochu (součet ploch) píku(ů) mono- a diacylglycerolů.

**Konjugované dieny.** Nejvýše 2,7 %; provede se absorpční spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25). *Celý postup se provádí co možná nejrychleji.*

*Zkoušený roztok:* 0,200 g až 0,800 g se rozpustí v *trimethylpentanu RI* a zředí se jím na 50,0 ml.

Měří se absorbance při 233 nm. V případě potřeby se koncentrace roztoku upraví tak, aby hodnota absorbance byla 0,2 až 0,8. Obsah konjugovaných dienů v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$0,91 \cdot \left( \frac{A}{c} - 0,07 \right),$$

v němž značí:

*A* - absorbance zkoušeného roztoku,

*c* - koncentrace zkoušeného roztoku v g/l,

0,91 - konverzní faktor,

0,07 - korekční faktor pro absorbanci esterových skupin při 233 nm.

## Stanovení obsahu

**EPA a DHA.** Celý postup se provádí co možná nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem, oxidačními činidly, oxidačními katalyzátory (např. měď a železo) a vzduchem.

Provede se plynová chromatografie (2.2.28). Ve zkoušené látce se stanoví methylestery kyselin all-*cis*-ikosa-5,8,11,14,17-pentaenové (EPA; 20:5 n-3) a all-*cis*-dokosa-4,7,10,13,16,19-hexaenové (DHA; 22:6 n-3).

*Vnitřní standard. Methyltrikosanoat R.*

*Zkoušený roztok (a).* 0,300 g zkoušené látky a asi 70,0 mg vnitřního standardu se rozpustí v roztoku *butylhydroxytoluenu R* (0,05 g/l) v *trimethylpentanu R* a zředí se stejným roztokem na 10,0 ml. 2,0 ml získaného roztoku se převede do křemenné zkumavky a rozpouštědlo se odpaří mírným proudem *dusíku R*. Přidá se 1,5 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (20 g/l) v *methanolu R*, převrství se *dusíkem R*, dobře se uzavře uzávěrem potaženým polytetrafluorethylenem, zamíchá se a zahřívá se 7 min na vodní lázni. Po vychladnutí se přidají 2 ml *chloridu boritého v methanolu RS*, převrství se *dusíkem R*, dobře se uzavře, promíchá a zahřívá se 30 min na vodní lázni. Po ochlazení na 40 °C až 50 °C se přidá 1 ml *trimethylpentanu R*, uzavře se a důkladně nejméně 30 s se třepe. Bezprostředně poté se přidá 5 ml nasyceného roztoku *chloridu sodného R*, převrství se *dusíkem R*, uzavře se a důkladně se 15 s třepe. Horní vrstva se přemístí do samostatné zkumavky. Methanolová vrstva se třepe ještě jednou s 1 ml *trimethylpentanu R*. Spojené trimethylpentanové extrakty se ještě dvakrát promyjí 1 ml *vody R* a suší se nad *síranem sodným bezvodým R*. Připraví se dva roztoky pro každý vzorek.

*Zkoušený roztok (b).* 0,300 g se rozpustí v roztoku *butylhydroxytoluenu R* (0,05 g/l) v *trimethylpentanu R* a zředí se stejným roztokem na 10,0 ml. Dále se pokračuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

*Porovnávací roztok (a).* 60,0 mg *ethyl-dokosa-hexaenoatu CRL*, asi 70,0 mg vnitřního standardu a 90,0 mg *ethyl-ikosapentaenoatu CRL* se rozpustí v roztoku *butylhydroxytoluenu R* (0,05 g/l) v *trimethylpentanu R* a zředí se stejným roztokem na 10,0 ml. Dále se pokračuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

*Porovnávací roztok (b).* 0,3 g *methylpalmitatu R*, 0,3 g *methylstearatu R*, 0,3 g *methylarachidatu R* a 0,3 g *methylbehenatu R* se převede do 10ml odměrné baňky, rozpustí se v roztoku *butylhydroxytoluenu R* (0,05 g/l) v *trimethylpentanu R* a zředí se stejným roztokem na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky nejméně 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R* (tloušťka filmu je 0,25 μm),
- *vodíku pro chromatografii R* nebo *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu s použitím deoxo filtru,
- plamenioionizačního detektoru,
- injektorové smyčky (1 : 200).

Teplota kolony se 0,5 min udržuje na 170 °C, pak se zvyšuje rychlostí 10 °C/min na 240 °C a udržuje se 22 min na 240 °C; teplota vstřikovacího prostoru je 250 °C a teplota detektoru je 280 °C.

Nastříkne se dvakrát po 1 μl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou tři píky odpovídající *methyl-ikosapentaenoatu*, *methyltrikosanoatu* a *methyl-dokosa-hexaenoatu*,
- na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) stoupá procentuální plošné zastoupení v následujícím pořadí: *methylpalmitat*, *methylstearat*, *methylarachidat*, *methylbehenat*; rozdíl mezi procentuálním plošným zastoupením *methylpalmitatu* a *methylbehenatu* je menší než dvě plošná procenta,
- při korekci na vnitřní standard je výťažnost stanovení provedených metodou standardního přídatku ke zkoušenému roztoku (a) větší než 95 % přidaného množství *ethyl-dokosa-hexaenoatu CRL* a *ethyl-ikosapentaenoatu CRL*.

Obsah EPA a DHA, vyjádřených jako triacylglyceroly, se vypočítá v procentech podle následujícího vztahu (do výpočtu se zahrnuje vyznačená hodnota pro porovnávací látky):



$$A_x \cdot \frac{A_3}{m_3} \cdot \frac{m_1}{A_1 - (A_2 \cdot C)} \cdot \frac{m_{x,r}}{A_{x,r}} \cdot \frac{1}{m_r} \cdot 0,995 \cdot 100,$$

v němž značí:

$(A_2 \cdot C)$  je korekční faktor pro pík eluovaný společně s vnitřním standardem:

$$C = \frac{A_4}{A_5},$$

$m_1$  - hmotnost vnitřního standardu ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech,

$m_2$  - hmotnost vzorku ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech,

$m_3$  - hmotnost vnitřního standardu v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,

$m_{x,r}$  - hmotnost *ethylkosapentaenoatu CRL* nebo *ethylidokosaheptaenoatu CRL* v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,

$A_x$  - plochu píku methylkosapentaenoatu nebo methylidokosaheptaenoatu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

$A_{x,r}$  - plochu píku methylkosapentaenoatu nebo methylidokosaheptaenoatu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),

$A_1$  - plochu píku methyltrikosanoatu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

$A_2$  - plochu píku methylkosapentaenoatu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

$A_3$  - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),

$A_4$  - plochu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b), který má retenční čas odpovídající retenčnímu času vnitřního standardu na chromatogramech zkoušeného roztoku (a) a porovnávacího roztoku (a),

$A_5$  - plochu píku methylkosapentaenoatu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b).

**Celkový obsah omega-3-kyselin.** Celkový obsah omega-3-kyselin vyjádřený jako triacylglyceroly se v procentech vypočítá podle vztahu, v němž se použijí hodnoty získané při stanovení EPA a DHA a jednotlivé píky se určí ze vzorových chromatogramů (obr. 2 a obr. 3):

$$EPA + DHA + \frac{A_{n-3}(EPA + DHA)}{A_{EPA} + A_{DHA}},$$

v němž značí:

*EPA* - obsah EPA získaný při stanovení EPA a DHA v procentech,

*DHA* - obsah DHA získaný při stanovení EPA a DHA v procentech,

$A_{n-3}$  - součet ploch píků methylesterů kyselin C18:3 n-3, C18:4 n-3, C20:4 n-3, C21:5 n-3 a C22:5 n-3 na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),

$A_{EPA}$  - plochu píku methylesteru EPA na chromatogramu zkoušeného roztoku (b).

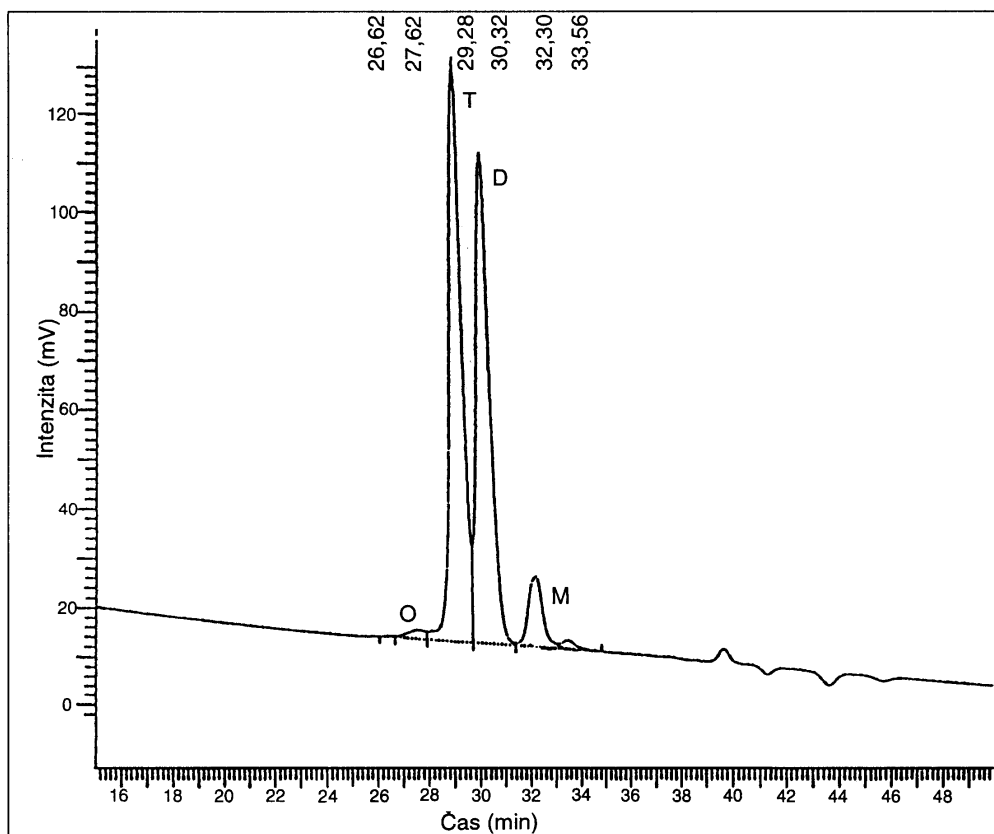
$A_{DHA}$  - plochu píku methylesteru DHA na chromatogramu zkoušeného roztoku (b).

## Uchovávání

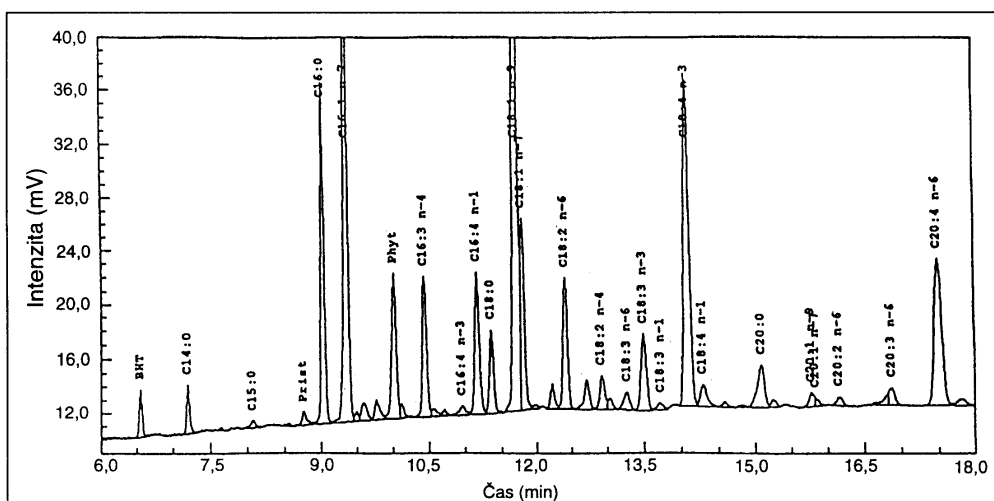
Ve vzduchotěsných zcela naplněných obalech, chráněny před světlem, v inertní atmosféře.

## Označování

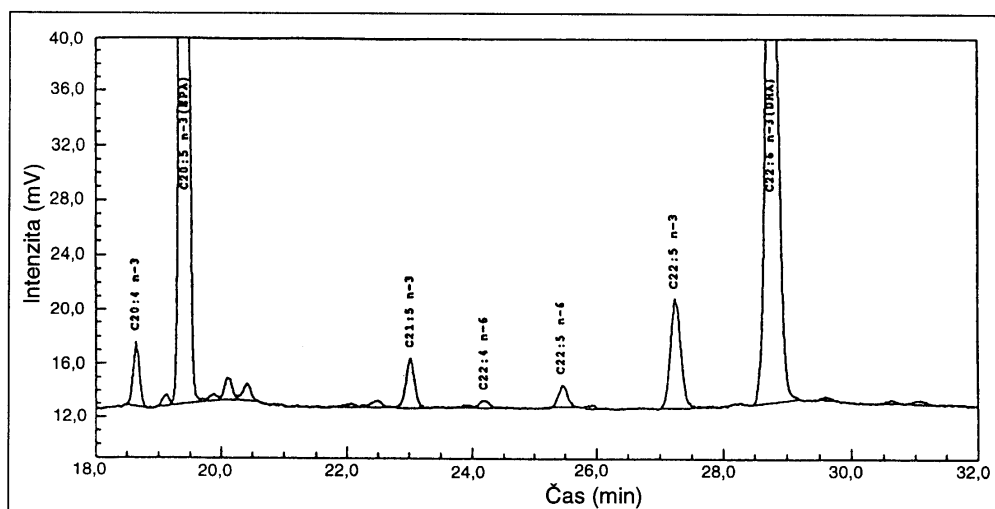
V označení na obalu se uvede koncentrace přidaného tokoferolu.



**Obr. 1** Vzorový chromatogram pro oligomery a parciální acylglyceroly  
 O = oligomer, T = triacylglyceroly, D = diacylglyceroly, M = monoacylglyceroly



**Obr. 2** Vzorový chromatogram pro stanovení celkového obsahu omega-3-kyselin



Obr. 3 Vzorový chromatogram pro stanovení celkového obsahu omega-3-kyselin

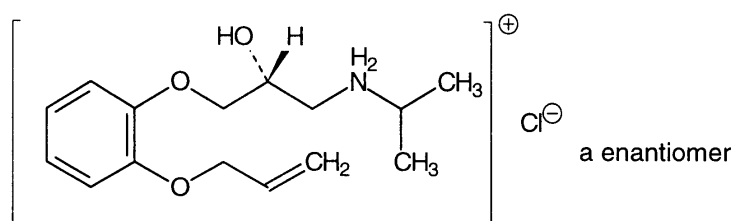
“

148. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Oxprenololi hydrochloridum zní:

”

## † Oxprenololi hydrochloridum

Oxprenololiumchlorid



$C_{15}H_{24}ClNO_3$

$M_r$  301,81

CAS 6452-73-9

Je to (*RS*)-*N*-isopropyl-3-(2-allyloxyfenoxy)-2-hydroxypropylamoniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{15}H_{24}ClNO_3$ .

<sup>1)</sup> (*RS*)-*N*-isopropyl-3-(2-allyloxyfenoxy)-2-hydroxypropylamonium-chlorid

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno 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.** Teplota tání (2.2.14). 107 °C až 110 °C.

**B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *oxprenololiumchloridu CRL*. Pokud se spektra získaná v pevném stavu u zkoušené látky a referenční látky liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v *ethylacetatu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

**C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrnana chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**D.** Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 2,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého *R* a zředí se jí na 20 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok *S* je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *ZŽ<sub>6</sub>* (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,5 až 6,0; měří se čerstvě připravený roztok *S*.

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

*Zkoušený roztok (a).* 0,10 g se rozpustí ve 2 ml směsi objemových dílů *methanolu R* a *chloroformu R* (1 + 9).

*Zkoušený roztok (b).* 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *chloroformu R* (1 + 9) na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg *oxprenololiumchloridu CRL* se rozpustí ve 2 ml směsi objemových dílů *methanolu R* a *chloroformu R* (1 + 9).

*Porovnávací roztok (b).* 0,4 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *chloroformu R* (1 + 9) na 100 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 5 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *chloroformu R* (1 + 9) na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 2 µl každého roztoku a skvrny se suší 15 min na vzduchu. Vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *chloroformu R* (2 + 12 + 88) po dráze 13 cm. Vrstva se suší 10 min v proudu teplého vzduchu a po ochlazení se postříká *anisaldehydem RS*. Potom se zahřívá 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,4 %) a nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,2 %).

**Olovo.** Nejvýše 5 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrofotometrií (2.2.23, *Metoda II*).

*Zkoušený roztok.* 1,00 g se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 25,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se zředěním 0,5 ml a 1,0 ml základního roztoku olova (10 µg *Pb/ml*) vodou *R* na 25,0 ml.

Měří se absorbance při 217,0 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 6 h ve vakuu při 60 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Stanovení obsahu**

0,250 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 50 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 30,18 mg  $C_{15}H_{24}ClNO_3$ .

**Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

“

149. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Oxytocinum zní:

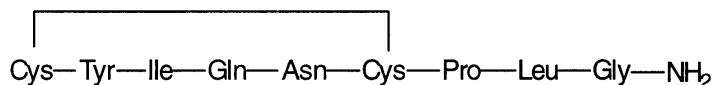
”

**† Oxytocinum**

Oxytocin



2001

 $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$  $M_r$  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  $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ .

Pro komerční účely při označování oxytocinových přípravků odpovídá 1 mg peptidu oxytocinu ( $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ ) 600 m.j. biologické účinnosti.

**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 *proste 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. *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 tlumivým roztokem na vhodný objem. Do analyzátoru aminokyselin se odměří vhodný objem.

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.** Provede se kapalinová chromatografie (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 píků; součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 5 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k pikům rozpouštědla a k pikům, jejichž plocha je menší než 0,1 % plochy hlavního píku.

**Kyselina octová (2.5.34).** 6,0 % až 10,0 %.

**Zkoušený roztok.** 15,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (5 + 95) a zředí se stejnou směsí rozpouštědla na 10,0 ml.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 5,0 %; stanoví se s nejméně 50 mg 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 300 m.j. endotoxinu v miligramu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (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) a zředí se jím na 20,0 ml.

**Roztok pro rozlišení.** Obsah lahvičky *oxytocin/desmopressinu pro validaci CRL* se rozpustí v 500  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{m}$ ),
- 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 pro chromatografii 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 zaznamenání chromatogramů za 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 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 ( $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ ),
- kde je to vhodné, že je látka sterilní,
- kde je to vhodné, že je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

150. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Papaverini hydrochloridum zní:

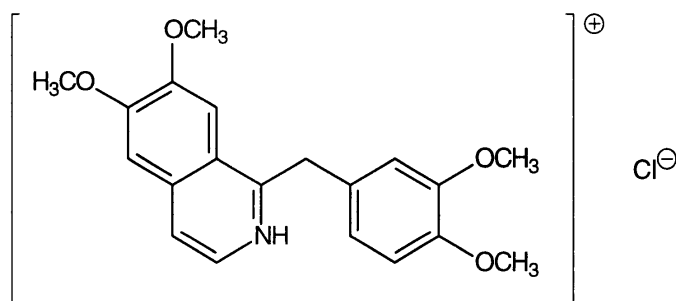
”

## † Papaverini hydrochloridum

Papaveriniumchlorid

*Synonymum.* Papaverinium chloratum

2001



$C_{20}H_{22}ClNO_4$

$M_r$  375,85

CAS 61-25-6

Je to 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-6,7-dimethoxyisochinoliniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{20}H_{22}ClNO_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bílé nebo téměř bílé krystaly. Je mírně rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

- A. 25 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 *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* na 250,0 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku při 230 nm až 270 nm (2.2.25); roztok vykazuje absorpční maximum při 250 nm. Specifická absorbance v maximu je 1590 až 1670. 10,0 ml prvního roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* na 100,0 ml. Měří se absorbance při 270 nm až 350 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 280 nm až 290 nm a při 303 nm až 313 nm. Specifické absorbance v maximech jsou 140 až 200 a 200 až 250.
- B. K 10 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá několik kapek *amoniaku 17,5% RS* a nechá se stát. Promytá a vysušená sraženina taje (2.2.14) při 146 °C až 149 °C.
- C. K asi 10 mg se přidají 3 ml *acetanhydridu R* a opatrně 0,15 ml *kyseliny sírové R* a zahřívá se na vodní lázni 3 min až 4 min; vzniká žluté zbarvení se zelenou fluorescencí.
- D. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

<sup>1)</sup> 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-6,7-dimethoxyisochinolin-2-ium-chlorid



### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,4 g se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 20 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok ZŽ<sub>6</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,0 až 4,0; měří se roztok S.

**Snadno zuhelnitelné látky.** K 50 mg se přidá 5 ml *kyseliny sírové R* a nechá se 15 min stát. Roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Č<sub>4</sub> nebo Ž<sub>4</sub> (2.2.2, *Metoda I*).

**Cizí alkaloidy.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** 0,5 g se rozpustí v *chloroformu R* a zředí se jím na 10 ml.

**Porovnávací roztok.** 50 mg *kodeinu R* se rozpustí v *chloroformu R* a zředí se jím na 100 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *diethylaminu R*, *ethylacetatu R* a *toluenu R* (10 + 20 + 70) po dráze 15 cm. Deska s vrstvou se zahřívá do vymizení pachu diethylaminu. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (1,0 %). Nepřihlíží se ke skvrně, která zůstane na startu.

**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 se zbytkem ze zkoušky Ztráta sušením.

### Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 50 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 37,59 mg C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>4</sub>.

### Uchovávání

Separandum.

“

151. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články *Paraffinum liquidum*, *Paraffinum perliquidum* a *Paraffinum solidum* znějí:

”

## Paraffinum liquidum

Tekutý parafin



2001

CAS 8012-95-1

Je to čišťená směs tekutých nasycených uhlovodíků získaných z ropy.

## Vlastnosti

Bezbarvá průsvitná olejovitá kapalina. V denním světle nejeví fluorescenci. Je prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, mísitelný s uhlovodíky.

## 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 odpovídá referenčnímu spektru Ph. Eur. tvrdého parafinu.

**B.** 1 ml se ve zkumavce opatrně vaří asi 30 s za plynulého třepání s 1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*. Po ochlazení na pokojovou teplotu se oddělí dvě vrstvy. K vodné vrstvě se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; roztok se zbarví červeně.

**C.** Zkouška Viskozita, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

## Zkoušky na čistotu

**Kyselce nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml se přidá 20 ml vroucí vody *R* a silně se 1 min třepe. Vodná vrstva se oddělí a zfiltruje. K 10 ml filtrátu se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Ke změně zbarvení roztoku na růžové se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

**Relativní hustota (2.2.5).** 0,827 až 0,890.

**Viskozita (2.2.9).** 110 mPa.s až 230 mPa.s.

**Polycyklické aromatické uhlovodíky.** *Použijí se zkoumadla pro spektrofotometrii.* 25,0 ml se převede do dělicí nálevky na 125 ml s nenamazanými zabroušenými částmi (zátky, uzavírací kohout) a přidá se 25 ml *hexanu R* předem dvakrát protřepaného s objemovým dílem *dimethylsulfoxidu R*, odpovídajícím pětina objemu *hexanu R*. Po promíchání se přidá 5,0 ml *dimethylsulfoxidu R*, silně se 1 min třepe a nechá se stát, dokud se nevytvoří dvě čiré vrstvy. Spodní vrstva se převede do druhé dělicí nálevky, přidají se 2 ml *hexanu R* a směs se silně protřepe. Nechá se stát, dokud se nevytvoří dvě čiré vrstvy. Spodní vrstva se oddělí a měří se absorbance (2.2.25) při 260 nm až 420 nm za použití kontrolní tekutiny, kterou je čirá spodní vrstva získaná silným třepáním 5,0 ml *dimethylsulfoxidu R* s 25 ml *hexanu R* po dobu 1 min. Připraví se porovnávací roztok *naftalenu R* (7,0 mg/l) v *trimethylpentanu R* a měří se absorbance v maximu při 275 nm za použití *trimethylpentanu R* jako kontrolní tekutiny. Absorbance zkoušeného roztoku měřená při 260 nm až 420 nm není při žádné vlnové délce větší než jedna třetina absorbance porovnávacího roztoku při 275 nm.

**Snadno zuhelnitelné látky.** Do zkumavky se zabroušenou zátkou o délce asi 125 mm a o vnitřním průměru 18 mm dělené na 5 ml a 10 ml, umyté *kyselinou chromsírovou R*, vypláchnuté *vodou R* a vysušené se převede 5 ml zkoušené látky. Přidá se 5 ml *kyseliny sírové prosté dusíku R* (95,0% až 95,5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), uzavře se a silně, jak je možné, se ve směru podélné osy zkumavky po dobu 5 s třepe. Zkumavka se otevře a ihned se umístí do vodní lázně tak, aby se nedotýkala dna nebo stěn lázně, a zahřívá se 10 min. Po 2 min, 4 min, 6 min a 8 min se zkumavka vyjme z vodní lázně a 5 s se silně třepe ve směru podélné osy zkumavky. Na konci desetiminutového zahřívání se zkumavka vyjme z lázně, nechá se stát 10 min a potom se 5 min odstředí při 2000 g<sub>n</sub>. 4 ml horní vrstvy se převedou do čisté zkumavky. Roztok není zbarven intenzivněji (2.2.2, *Metoda I*) než 4 ml směsi 0,6 ml standardního barevného roztoku H a 9,4 ml *kyseliny chlorovodíkové 1% RS*. Spodní vrstva není zbarvena intenzivněji (2.2.2, *Metoda I*) než směs 0,5 ml základního modrého roztoku, 1,5 ml základního červeného roztoku, 3,0 ml základního žlutého roztoku a 2 ml *kyseliny chlorovodíkové 1% RS*.

**Pevné parafiny.** Zahřívá se vhodné množství zkoušené látky při 100 °C po dobu 2 h a ochladí se v exsikátoru nad *kyselinou sírovou R*. Převede se do skleněné zkumavky s vnitřním průměrem asi 25 mm, zkumavka se uzavře a ponoří se do vody s ledem. Po 4 h je tekutina dostatečně čirá tak, že 0,5 mm silná černá čára na bílém pozadí, umístěná vertikálně za zkumavkou je jasně viditelná.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.

# Paraffinum perliquidum

Lehký tekutý parafin



2001

CAS 8012-95-1

Je to čištěná směs tekutých nasycených uhlovodíků.

## Vlastnosti

Bezbarvá průsvitná olejovitá kapalina. V denním světle nejeví fluorescenci. Je prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, mísitelný s uhlovodíky.

## 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 odpovídá referenčnímu spektru *Ph. Eur. tvrdého parafinu*.

**B.** 1 ml se ve zkumavce opatrně vaří asi 30 s za plynulého třepání s 1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*. Po ochlazení na pokojovou teplotu se oddělí dvě vrstvy. K vodné vrstvě se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; roztok se zbarví červeně.

**C.** Zkouška Viskozita, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

## Zkoušky na čistotu

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml se přidá 20 ml vroucí vody *R* a silně se 1 min třepe. Vodná vrstva se oddělí a zfiltruje. K 10 ml filtrátu se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Ke změně zbarvení roztoku na růžové se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

**Relativní hustota (2.2.5).** 810 až 875.

**Viskozita (2.2.9).** 25 mPa.s až 80 mPa.s.

**Polycyklické aromatické uhlovodíky.** *Použijí se zkoumadla pro spektrofotometrii.* 25,0 ml se převede do dělicí nálevky na 125 ml s nenamazanými zabroušenými částmi (zátky, uzavírací kohout) a přidá se 25 ml *hexanu R* předem dvakrát protřepaného s objemovým dílem *dimethylsulfoxidu R*, odpovídajícím pětině objemu hexanu. Po promíchání se přidá 5,0 ml *dimethylsulfoxidu R*, silně se 1 min třepe a nechá se stát, dokud se nevytvoří dvě čiré vrstvy. Spodní vrstva se převede do druhé dělicí nálevky, přidají se 2 ml *hexanu R* a směs se silně protřepe. Nechá se stát, dokud se nevytvoří dvě čiré vrstvy. Spodní vrstva se oddělí a měří se absorbance (2.2.25) při 260 nm až 420 nm za použití kontrolní tekutiny, kterou je čirá spodní vrstva získaná silným třepáním 5,0 ml *dimethylsulfoxidu R* s 25 ml *hexanu R* po dobu 1 min. Připraví se porovnávací roztok *naftalenu R (7,0 mg/l)* v *trimethylpentanu R* a měří se absorbance v maximu při 275 nm za použití *trimethylpentanu R* jako kontrolní tekutiny. Absorbance zkoušeného roztoku měřená při 260 nm až 420 nm není při žádné vlnové délce větší než jedna třetina absorbance porovnávacího roztoku při 275 nm.

**Snadno zuhelnitelné látky.** Do zkumavky se zabroušenou zátkou o délce asi 125 mm a o vnitřním průměru 18 mm dělené na 5 ml a 10 ml, umyté *kyselinou chromstovou R*, vypláchnuté *vodou R* a vysušené se převede 5 ml zkoušené látky. Přidá se 5 ml *kyseliny sírové prosté dusíku R (95,0% až 95,5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)*, uzavře se a silně, jak je možné, se ve směru podélné osy zkumavky po dobu 5 s třepe. Zkumavka se otevře a ihned se umístí do vodní lázně tak, aby se nedotýkala dna nebo stěn lázně, a zahřívá se 10 min. Po 2 min, 4 min, 6 min a 8 min se zkumavka vyjme z vodní lázně

a 5 s se silně třepe ve směru podélné osy zkumavky. Na konci desetiminutového zahřívání se zkumavka vyjme z lázně, nechá se stát 10 min a potom se 5 min odstředí při 2000  $g_n$ . 4 ml horní vrstvy se převedou do čisté zkumavky. Roztok není zbarven intenzivněji (2.2.2, *Metoda I*) než 4 ml směsi 0,6 ml standardního barevného roztoku H a 9,4 ml *kyseliny chlorovodíkové 1% RS*. Spodní vrstva není zbarvena intenzivněji (2.2.2, *Metoda I*) než směs 0,5 ml základního modrého roztoku, 1,5 ml základního červeného roztoku, 3,0 ml základního žlutého roztoku a 2 ml *kyseliny chlorovodíkové 1% RS*.

**Pevné parafiny.** Zahřívá se vhodné množství zkoušené látky při 100 °C po dobu 2 h a ochladí se v exsikátoru nad *kyselinou sírovou R*. Převede se do skleněné zkumavky s vnitřním průměrem asi 25 mm, zkumavka se uzavře a ponoří se do vody s ledem. Po 4 h je tekutina dostatečně čirá tak, že 0,5 mm silná černá čára na bílém pozadí umístěná vertikálně za zkumavkou, je jasně viditelná.

### Uchovávání

Chráněn před světlem.

---

## Paraffinum solidum

Tvrký parafin

*Synonymum.* Paraffinum durum



CAS 8002-74-2

Je to čištěná směs tuhých nasycených uhlovodíků získaných hlavně z ropy. Může obsahovat vhodnou antioxidační přísadu.

### Vlastnosti

Bezbarvá nebo bílá hmota. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Roztavená zkoušená látka v denním světle nejeví fluorescenci.

### 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 odpovídá *referenčnímu spektru Ph. Eur. tvrdého parafinu*.
- B. Zkouška Kyselého nebo zásadité reaguující látky, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Teplota tání (2.2.16). 50 °C až 61 °C.

### Zkoušky na čistotu

**Kyselého nebo zásadité reaguující látky.** K 15 g se přidá 30 ml vroucí vody *R* a silně se 1 min třepe. Směs se ochladí a vrstvy se oddělí. K 10 ml vodné vrstvy se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Ke změně zbarvení indikátoru na červené se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*. K dalším 10 ml vodné vrstvy se přidá 0,1 ml *červeně methylové RS*; roztok je žlutý. Ke změně zbarvení indikátoru na červené se spotřebuje nejvýše 0,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Polycyklické aromatické uhlovodíky.** Použijí se zkoumadla pro absorpční spektrofotometrii v ultrafialové oblasti. 0,50 g se rozpustí v 25 ml *heptanu R* a směs se převede do 125ml dělicí nálevky s nenamazanými zabroušenými částmi (zátky, uzavírací kohout). Přidá se 5,0 ml *dimethylsulfoxidu R*, silně se 1 min třepe a nechá se stát, dokud se nevytvorí

dvě čiré vrstvy. Spodní vrstva se převede do druhé dělicí nálevky, přidají se 2 ml *heptanu R* a směs se silně protřepe. Nechá se stát, dokud se nevytvoří dvě čiré vrstvy. Spodní vrstva se oddělí a měří se absorbance (2.2.25) při 265 nm až 420 nm za použití kontrolní tekutiny, kterou je čirá spodní vrstva získaná silným třepáním 5,0 ml *dimethylsulfoxidu R* s 25 ml *heptanu R* po dobu 1 min. Připraví se porovnávací roztok *naftalenu R* (7,0 mg/l) v *dimethylsulfoxidu R* a měří se absorbance tohoto roztoku v maximu při 278 nm za použití *dimethylsulfoxidu R* jako kontrolní tekutiny. Absorbance zkoušeného roztoku měřená při 265 nm až 420 nm není při žádné vlnové délce větší než jedna třetina absorbance porovnávacího roztoku při 278 nm.

**Sírany** (2.4.13). 2,0 g roztavené zkoušené látky se převedou do 50ml dělicí nálevky se zabroušenou zátkou. Přidá se 30 ml vroucí vody *destilované R*, 1 min se silně třepe a potom se zfiltruje. 15 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce na sírany (150 µg/g).

### Uchovávání

Chráněn před světlem.

### Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, název a množství přidaného antioxidantu.

“

152. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Pepsini pulvis a Pergolidi mesilas znějí:

”

---

## Pepsini pulvis

Pepsin práškový

*Synonymum.* Pepsinum



CAS 9001-75-6

Je to přípravek ze žaludeční sliznice prasat, skotu nebo ovcí. Obsahuje žaludeční proteiny, které jsou účinné v kyselém prostředí (pH 1 až 5). Počítáno na vysušenou látku, účinnost je nejméně 0,5 Ph.Eur.j. v miligramu.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

Zvířata, ze kterých se pepsin 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.

## Vlastnosti

Bílý nebo slabě žlutý krystalický nebo amorfni hygroskopický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Vodný roztok může slabě opalizovat a mít slabě kyselou reakci.

## Zkouška totožnosti

30 mg *modře fibrinové R* se rozmělní v třecí misce a suspenduje se ve 20 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS2*. Suspenze se filtruje přes filtrační papír, který se pak promývá *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS2* do získání bezbarvého filtrátu. Ve filtračním papíru se udělá otvor a *modř fibrinová R* se vymývá 20 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS2* do kuželové baňky. Před použitím se protřepe. Množství zkoušené látky odpovídající nejméně 20 Ph.Eur.j., se rozpustí ve 2 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS2* a pH se upraví na hodnotu  $1,6 \pm 0,1$ . 1 ml tohoto roztoku se přenese do zkumavky obsahující 4 ml suspenze *modře fibrinové R*, promíchá se, umístí se za opatrného protřepávání do vodní lázně při 25 °C. Současně se stejným způsobem provede slepá zkouška za použití 1 ml *vody R*. Po 15min zahřívání je kontrolní roztok získaný při slepé zkoušce bezbarvý a roztok se zkoušenou látkou je modrý.

## Zkoušky na čistotu

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 0,500 g se suší 4 h nad *oxidem fosforečným R* při 60 °C a tlaku nepřevyšujícím 670 Pa.

**Mikrobiální znečištění** (2.6.12). Celkový počet živých aerobních mikroorganismů je nejvýše  $10^4$  v gramu, stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

## Stanovení účinnosti

Stanoví se porovnáním množství peptidů nevysrážených *kyselinou trichloroctovou RS* a stanovených za použití *zkumadla fosfomolybdenan-wolframového R*, uvolněných za 1 min z roztoku substrátu *hemoglobinu RS* s množstvím peptidů uvolněných *pepsinem práškovým BRP* ze stejného substrátu a za stejných podmínek.

*Během přípravy zkoušeného a porovnávacího roztoku je třeba se vyvarovat jejich třepání a zpěnění.*

**Zkoušený roztok.** Těsně před použitím se připraví roztok zkoušené látky v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS2* s předpokládanou účinností 0,5 Ph.Eur.j. v mililitru, je-li třeba, upraví se pH *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS* na hodnotu  $1,6 \pm 0,1$  a zředí se na příslušný objem.

**Porovnávací roztok.** Méně než 15 min před použitím se připraví roztok *pepsinu práškového BRP* obsahující 0,5 Ph.Eur.j. v 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS2*, je-li třeba, upraví se pH *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS* na hodnotu  $1,6 \pm 0,1$  a zředí se na příslušný objem.

Zkumavky se označí duplicitně T, T<sub>b</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>1b</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>2b</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>3b</sub> a jedna zkumavka se označí B.

Přidá se *kyselina chlorovodíková RS2* následujícím způsobem:

1,0 ml do zkumavky označené B,

0,5 ml do zkumavek označených S<sub>1</sub> a S<sub>1b</sub>,

0,25 ml do zkumavek označených S<sub>2</sub>, S<sub>2b</sub>, T a T<sub>b</sub>.

Přidá se porovnávací roztok následujícím způsobem:

0,5 ml do zkumavek označených S<sub>1</sub> a S<sub>1b</sub>,

0,75 ml do zkumavek označených S<sub>2</sub> a S<sub>2b</sub>,

1,0 ml do zkumavek označených S<sub>3</sub> a S<sub>3b</sub>.

Přidá se 0,75 ml zkoušeného roztoku do zkumavek označených T a T<sub>b</sub>.

Do zkumavek S<sub>1b</sub>, S<sub>2b</sub>, S<sub>3b</sub>, T<sub>b</sub> a B se přidá 10,0 ml *kyseliny trichloroctové RS*. Roztoky se třepáním promíchají.

Zkumavky a *hemoglobin RS* se umístí do vodní lázně při teplotě ( $25 \pm 0,1$ ) °C. Je-li dosaženo rovnoměrné teploty, přidá se 5,0 ml *hemoglobinu RS* do zkumavek S<sub>1b</sub>, S<sub>2b</sub>, S<sub>3b</sub>, T<sub>b</sub> a B a promíchá se.

V čase 0 se přidá 5,0 ml *hemoglobinu RS* v 30s intervalech postupně do zkumavek S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub> a T, které se po každém přidávku promíchají.

Přesně 10 min po přidání *hemoglobinu RS* a v intervalech 30 s se reakce zastaví přidáním 10,0 ml *kyseliny trichloroctové RS* do zkumavek S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub> a T (použije se pevná dělená pipeta nebo automatická pipeta s odvzdušněním) a promíchá se.

Obsah každé zkumavky (zkoušené roztoky, porovnávací roztoky i kontrolní roztok) se přefiltruje dvakrát přes vhodný filtrační papír, který byl předem promyt roztokem *kyseliny trichloroctové R* (50 g/l), pak *vodou R* a vysušen. Prvních 5 ml filtrátu se odstraní. 3,0 ml každého filtrátu se převede odděleně do zkumavek s 20 ml *vody R* a promíchá se.

*Vhodný filtrační papír vyhovuje následující zkoušce:* 5 ml roztoku *kyseliny trichloroctové R* (50 g/l) se zfiltruje přes bílý filtrační papír o průměru 7 cm. Absorbance (2.2.25) filtrátu měřená při 275 nm proti nefiltrovanému roztoku *kyseliny trichloroctové R* jako kontrolní tekutině je menší než 0,04.

Do každé zkumavky se přidá 1,0 ml *hydroxidu sodného RS* a 1,0 ml *zkoumadla fosfomolybdenan-wolframového R* počínaje kontrolním roztokem a pak zkoušenými a porovnávacími roztoky v každé sadě v uvedeném pořadí. Výše uvedené operace jsou znázorněny v tabulce 1.

Po 15 min se měří absorbance (2.2.25) roztoků S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>1b</sub>, S<sub>2b</sub>, S<sub>3b</sub> a T při 540 nm proti filtrátu získaném ze zkumavky B jako kontrolní tekutiny. Odečtou se průměrné hodnoty absorbance pro filtráty ze zkumavek S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub> a S<sub>3</sub> od průměrných hodnot absorbance pro filtráty ze zkumavek S<sub>1b</sub>, S<sub>2b</sub>, S<sub>3b</sub>.

Strojící se kalibrační křivka opravených hodnot proti objemu použitého porovnávacího roztoku. Účinnost zkoušené látky se stanoví z rozdílu absorbance pro zkoušený roztok (T-T<sub>b</sub>) zjištěné z kalibrační křivky. K výpočtu se použijí zředovací faktory.

Tab. 1

	Zkumavky								
	S <sub>1</sub>	S <sub>1b</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>2b</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>3b</sub>	T	T <sub>b</sub>	B
<i>kyselina chlorovodíková zředěná RS2</i> (ml)	0,5	0,5	0,25	0,25			0,25	0,25	1,0
porovnávací roztok (ml)	0,5	0,5	0,75	0,75	1,0	1,0			
zkoušený roztok (ml)							0,75	0,75	
<i>kyselina trichloroctová RS</i> (ml)		10,0		10,0		10,0		10,0	10,0
zamíchá se		+		+		+		+	+
vodní lázeň při 25 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>hemoglobin RS</i> (ml)		5,0		5,0		5,0		5,0	5,0
zamíchá se		+		+		+		+	+
<i>hemoglobin RS</i> (ml)	5,0		5,0		5,0		5,0		
zamíchá se	+		+		+		+		
vodní lázeň při 25 °C, 10 min	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>kyselina trichloroctová RS</i> (ml)	10,0		10,0		10,0		10,0		
zamíchá se	+		+		+		+		
zfiltruje se	+	+	+	+	+	+	+	+	+

### Uchovávání

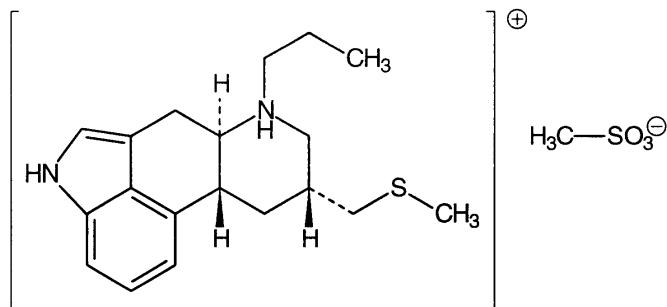
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

### Označování

V označení na obalu se uvede účinnost v Ph.Eur.j. v miligramu.

## †† Pergolidi mesilas

Pergolidiummesilat

 $C_{20}H_{30}N_2O_3S_2$  $M_r$  410,60

CAS 66104-23-2

Je to (6a*R*,9*R*,10a*R*)-9-[(methylthio)methyl]-7-propyl-4,6,6a,7,8,9,10,10a-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinoliniummethansulfonat<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,5 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{20}H_{30}N_2O_3S_2$ .

**Vlastnosti**

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu, těžce rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu a velmi těžce rozpustný v acetonu.

**Zkoušky totožnosti**

- A.** Specifická optická otáčivost (2.2.7).  $-17^\circ$  až  $-23^\circ$ ; počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,25 g v *dimethylformamidu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *pergolidiummesilatu CRL*.

**Zkoušky na čistotu**

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 30,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10 mg *4,4'-dimethoxybenzofenonu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. K 1 ml tohoto roztoku se přidají 2 ml zkoušeného roztoku a zředí se *methanolem R* na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:

<sup>1)</sup> (6a*R*,9*R*,10a*R*)-9-[(methylsulfanyl)methyl]-7-propyl-4,6,6a,7,8,9,10,10a-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-7-ium-methansulfonát



- *mobilní fáze A* - 5,0 ml *morfolinu pro chromatografii R* se smíchá s 995 ml *vody R* a pH se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 7,0. Použije se do 24 h,
- *mobilní fáze B* - směs stejných objemových dílů *acetonitrilu R*, *methanolu R* a *tetrahydrofuranu R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 35	70 → 0	30 → 100	lineární gradient
35 - 40	0 → 70	100 → 30	návrat k počátečním podmínkám
40 - 50	70	30	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) při nástřiku 20 µl byla nejméně 90 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími 4,4'-dimethoxybenzofenonu (první pík) a pergolidu (druhý pík) je nejméně 2,0.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a).

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 píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,02 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 1 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

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Roztok A*. 5,0 mg *DL-methioninu R* se rozpustí v 500 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*, přidá se 500 ml *methanolu R* a promíchá se.

*Zkoušený roztok*. 65,0 mg zkoušené látky se rozpustí v roztoku A a zředí se jím na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí roztokem A na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok*. 65,0 mg *pergolidiummesilatu CRL* se rozpustí v roztoku A a zředí se jím na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí roztokem A 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 oktysilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R*, *methanolu R* a směsi připravené následujícím způsobem: 2,0 g *oktansulfonanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 1,0 ml *kyseliny octové bezvodé R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml (1 + 1 + 2). Průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas pergolidu asi 9 min. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže faktor symetrie píku pergolidu je nejvýše 1,5.

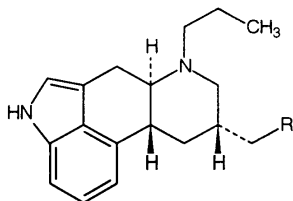
Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku.

Obsah  $C_{20}H_{30}N_2O_3S_2$  se vypočítá z ploch píků a z deklarovaného obsahu *pergolidiummesilatu CRL*.

## Uchování

Chráněn před světlem.

Venenum.

**Nečistoty***Kvalifikované nečistoty:*

A. R = SO-CH<sub>3</sub>: (6a*R*,9*R*,10a*R*)-9-[(methylsulfinyl)methyl]-7-propyl-4,6,6a,7,8,9,10,10a-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin (pergolidsulfoxid).

*Jiné detegovatelné nečistoty:*

B. R = SO<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: (6a*R*,9*R*,10a*R*)-9-[(methylsulfonyl)methyl]-7-propyl-4,6,6a,7,8,9,10,10a-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin (pergolidsulfon).

“

153. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Pethidini hydrochloridum zní:

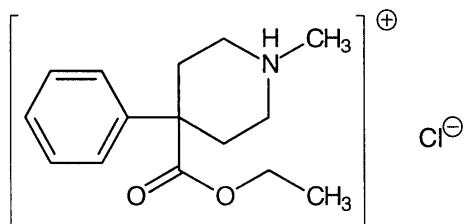
”

**§§ Pethidini hydrochloridum<sup>1)</sup>**

Pethidiniumchlorid

*Synonymum.* Pethidinium chloratum

2001

C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 283,80

CAS 50-13-5

Je to 4-ethoxykarbonyl-4-fenyl-1-methylpiperidiniumchlorid<sup>2)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>2</sub>.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 13, 1, 71 (2001). Závazné od 1. 1. 2001.

<sup>2)</sup> 4-ethoxykarbonyl-4-fenyl-1-methylpiperidinium-chlorid

## Vlastnosti

*Vzhled.* Bílý krystalický prášek.

*Rozpusťnost.* Velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

## Výroba

Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem, je výrobní metoda validována, aby se prokázalo, že obsah nečistoty B je nejvýše 0,1 µg/g.

## 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). 187 °C až 190 °C.

**B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

*Porovnání s referenčním spektrem Ph. Eur. pethidiniumchloridu.*

**C.** 0,1 g se rozpustí v 10 ml *ethanolu R* a přidá se 10 ml *trinitrofenolu RS*; tvoří se krystalická sraženina, která po promytí *vodou R* a vysušení při 100 °C až 105 °C taje (2.2.14) při 186 °C až 193 °C. Smíchá se stejné množství sraženiny a zkoušené látky a stanoví se teplota tání směsi, která je alespoň o 20 °C nižší než teplota tání sraženiny.

**D.** K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 5 ml *vody R*. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,5 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*).

**Kyselý nebo zásaditý reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,2 ml *červeně methylové RS* a 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je žlutý. Po přidání 0,3 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* se roztok zbarví červeně.

**Nečistota B.** Nejvýše 10 µg/g, pokud je určen k jinému než parenterálnímu použití.

*Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).*

*Zkoušený roztok (a).* 0,100 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (20 + 80) a zředí se stejnou směsí na 25,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 0,125 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (20 + 80) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (20 + 80) na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10,0 mg *pethidinu nečistoty A CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (20 + 80) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 12,5 mg *4-fenyl-1-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyridinu R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (20 + 80) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (b) a 1,0 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (20 + 80) na 100,0 ml.

*Kolona:*

- *rozměry:* délka 0,25 m, vnitřní průměr 4,0 mm;

- *stacionární fáze:* sférický *silikagel oktadecylsilanizovaný s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R* (5 µm) se specifickým povrchem 340 m<sup>2</sup>/g, s velikostí pórů 10 nm a s obsahem uhlíku 19 %.

**Mobilní fáze:**

- mobilní fáze A: smíchají se stejné objemové díly roztoku chloristanu sodného R (42,0 g/l) a roztoku kyseliny fosforečné R (11,6 g/l), pH se upraví triethylaminem R na hodnotu 2,0,
- mobilní fáze B: acetonitril R,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 15	80 → 75	20 → 25
15 - 31	75 → 55	25 → 45
31 - 40	55	45
40 - 41	55 → 80	45 → 20
41 - 50	80	20

Průtoková rychlost. 1,0 ml/min.

Detekce. Spektrofotometr, 210 nm.

Nástřik. Nastříkuje se po 50 µl zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (d).

Relativní retenční časy vzhledem k pethidinu (retenční čas je asi 24 min):

- nečistota B: asi 0,66;
- nečistota A: asi 0,68.

Test způsobilosti systému, porovnávací roztok (d):

- poměr signálu k šumu: nejméně 10 pro první pík,
- poměr píku k sedlu: nejméně 4; kde  $H_p$  je výška píku nečistoty B nad základní linií a  $H_v$  je výška nejnižšího bodu křivky oddělující tento pík a pík nečistoty A nad základní linií.

Limity:

- nečistota B: nejvýše plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Nečistota B.

Nástřik: Nastříkuje se po 20 µl zkoušeného roztoku (a) a porovnávacího roztoku (a).

Limity:

- jakákoliv nečistota: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %);
- celkový obsah všech nečistot: nejvýše dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,0 %);
- zanedbatelnost píků: 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,05 %).

**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 30 ml kyseliny octové bezvodé R, přidá se 5 ml octanu rtuťnatého RS, 0,1 ml violeti krystalové RS jako indikátoru a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS z fialově modrého do zeleného zbarvení.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 28,38 mg  $C_{15}H_{22}ClNO_2$ .

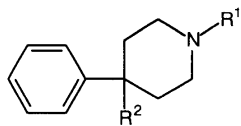
**Uchovávání**

- Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.
- Omamná látka.

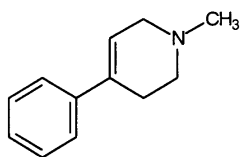
**Označování**

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, zda je látka vhodná pro výrobu parenterálních lékových forem.

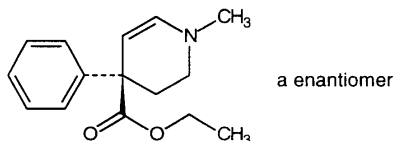
## Nečistoty



- A.  $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{H}$ : 4-fenyl-1-methylpiperidin,  
 C.  $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{COOH}$ : kyselina 4-fenyl-1-methylpiperidin-4-karboxylová,  
 D.  $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{CO-O-CH}_3$ : methyl-4-fenyl-1-methylpiperidin-4-karboxylát<sup>3)</sup>,  
 E.  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{CO-O-CH}_2\text{-CH}_3$ : ethyl-4-fenylpiperidin-4-karboxylát<sup>4)</sup>,  
 F.  $R^1 = \text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ ,  $R^2 = \text{COOH}$ : kyselina 1-benzyl-4-fenylpiperidin-4-karboxylová,  
 G.  $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{CO-O-CH(CH}_3)_2$ : isopropyl-4-fenyl-1-methylpiperidin-4-karboxylát<sup>5)</sup>,  
 H.  $R^1 = \text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ ,  $R^2 = \text{CO-O-CH}_2\text{-CH}_3$ : ethyl-1-benzyl-4-fenylpiperidin-4-karboxylát<sup>6)</sup>,  
 J.  $R^1 = \text{CH}_2\text{-CH}_3$ ,  $R^2 = \text{CO-O-CH}_2\text{-CH}_3$ : ethyl-1-ethyl-4-fenylpiperidin-4-karboxylát<sup>7)</sup>,



- B. 4-fenyl-1-methyl-1,2,3,6-tetrahydropyridin,



- I. ethyl-(4RS)-4-fenyl-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydropyridin-4-karboxylát<sup>8)</sup>.

“

<sup>3)</sup> methyl-4-fenyl-1-methylpiperidin-4-karboxylát

<sup>4)</sup> ethyl-4-fenylpiperidin-4-karboxylát

<sup>5)</sup> isopropyl-4-fenyl-1-methylpiperidin-4-karboxylát

<sup>6)</sup> ethyl-1-benzyl-4-fenylpiperidin-4-karboxylát

<sup>7)</sup> ethyl-1-ethyl-4-fenylpiperidin-4-karboxylát

<sup>8)</sup> ethyl-(4RS)-4-fenyl-1-methyl-1,2,3,4-tetrahydropyridin-4-karboxylát

154. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Phenobarbitalum natricum doplňuje článek Phenolphthaleinum, který zní:

”

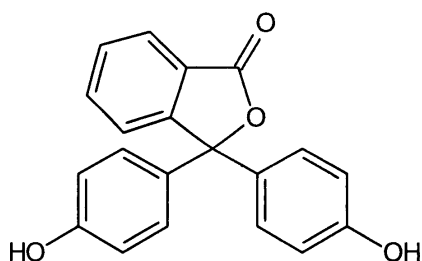
## † Phenolphthaleinum

Fenolftalein

Synonymum. Phenolphthaleinum



2001

 $C_{20}H_{14}O_4$  $M_r$  318,32

CAS 77-09-8

Je to 3,3-bis(4-hydroxyfenyl)-3H-isobenzofuran-1-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{20}H_{14}O_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.  
Taje při asi 260 °C.

### Zkoušky totožnosti

- A. 25,0 mg se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 100,0 ml (roztok A). Ke 2,0 ml roztoku A se přidá 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a zředí se lihem 96% R na 50,0 ml (roztok A<sub>1</sub>). K 10,0 ml roztoku A se přidá 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a zředí se lihem 96% R na 50,0 ml (roztok A<sub>2</sub>). K 2,0 ml roztoku A se přidá 5,0 ml hydroxidu sodného 1 mol/l RS a zředí se lihem 96% R na 50,0 ml (roztok B). Měří se absorbance (2.2.25) roztoku A<sub>1</sub> při 220 nm až 250 nm; roztok A<sub>1</sub> vykazuje absorpční maximum při 229 nm. Specifická absorbance v maximu při 229 nm je 922 až 1018. Měří se absorbance roztoku A<sub>2</sub> při 250 nm až 300 nm; roztok A<sub>2</sub> vykazuje absorpční maximum při 276 nm. Specifická absorbance v maximu při 276 nm je 142 až 158. Měří se absorbance roztoku B při 230 nm až 270 nm; roztok B vykazuje absorpční maximum při 249 nm. Specifická absorbance v maximu při 249 nm je 744 až 822.
- B. Asi 10 mg se rozpustí v lihu 96% R a přidá se 1 ml hydroxidu sodného zředěného RS; roztok je červený. Přidá se 5 ml kyseliny sírové zředěné RS; roztok se odbarví.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** K 2,0 g se přidá 40 ml vody destilované R, zahřeje se k varu, ochladí se a zfiltruje.

**Vzhled roztoku.** 0,20 g se rozpustí v 5 ml lihu 96% R. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>7</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Kyselce nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,15 ml *modře bromthymolové RS1* a 0,05 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*; roztok je žlutý. Přidá se 0,10 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je modrý.

**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 v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *lihem 96% R* na 10 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 25 mg *fluorenu R* se rozpustí v *lihu 96% R*, přidá se 0,5 ml zkoušeného roztoku a zředí se *lihem 96% R* na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a *dichlormethanu R* (50 + 50) po dráze odpovídající dvěma třetinám délky vrstvy. Vrstva se usuší na vzduchu, pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm, vystaví se působení par amoniaku a opět se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**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).

**Sírany** (2.4.13). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (200  $\mu$ g/g).

**Těžké kovy** (2.4.8). 3 g se zahřívají 5 min na vodní lázni s 50 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Potom se směs zfiltruje, filtrát se odpaří téměř do sucha a zbytek se rozpustí ve 30 ml *vody R*. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml *základního roztoku olova* (1  $\mu$ 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

0,100 g se rozpustí v 5 ml *dimethylformamidu R*, přidá se 5 ml *uhlíčitanu sodného RS*, 10 ml *hydrogenuhlíčitanu sodného RS*, 35 ml *vody R* a 50,0 ml *jodu 0,05 mol/l VS*. Potom se přidá 10 ml *dichlormethanu R*, 20 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a titruje se nadbytek jodu *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS*. Před koncem titrace se přidá 0,3 ml *škrobu RS* jako indikátor. Provede se slepá zkouška.

1 ml *jodu 0,05 mol/l VS* odpovídá 3,979 mg C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

155. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Phenylhydrargyri boras zní:

”

## † Phenylhydrargyri boras

Fenylhydrargyriumborat

*Synonyma.* Phenylhydrargyrum boricum, Hydrargyrum phenylboricum, boritan fenylrtuťnatý



CAS 8017-88-7

Je to sloučenina skládající se z ekvimolárních podílů fenylhydrargyriumorthoboratu<sup>1)</sup> ( $C_{12}H_{13}BHg_2O_4$ ;  $M_r$  633,23) nebo jeho dehydratované formy (metaborat,  $C_{12}H_{11}BHg_2O_3$ ;  $M_r$  615,21) a fenylhydrargyriumhydroxidu ( $C_6H_6HgO$ ;  $M_r$  294,70) nebo směsi obou sloučenin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 64,5 % až 66,0 % Hg ( $A_r$  200,59) a 9,8 % až 10,3 % boritanů (vyjádřeno jako  $H_3BO_3$ ;  $M_r$  61,83).

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek nebo bezbarvé, lesklé krystaly. Je těžce rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá *referenčnímu spektru Ph. Eur. fenylhydrargyriumboratu*.
- B.** Ke 2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 8 ml vody R a 0,1 ml *sulfidu sodného RS*; vzniká bílá sraženina, která zahříváním pomalu tmavne.
- C.** Asi 20 mg se rozpustí ve 2 ml *methanolu R*. Roztok je čirý a bezbarvý, po zapálení hoří plamenem na okraji zelelným.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,25 g se rozpustí nasypáním na povrch 25 ml vroucí vody R, ochladí se a zředí se vodou R na 25 ml.

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

**Ionizovaná rtuť.** K 10 ml roztoku S se přidají 2 ml *jodidu draselného RS* a 3 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zfiltruje se. Filtrát je bezbarvý. Sraženina se promyje 3 ml vody R a promývací tekutina se přidá k filtrátu. Ke spojeným filtrátům se přidají 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se vodou R na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (2.4.8). Porovnávací roztok se připraví za použití směsi 2,5 ml základního roztoku olova (2  $\mu g$  Pb/ml) a 7,5 ml vody R.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 3,5 %; suší se 0,50 g 15 h  $\pm$ 30 min v sušárně při 45 °C.

### Stanovení obsahu

**Rtuť.** 0,300 g se rozpustí ve 100 ml vody R, přidají se 3 ml *kyseliny dusičné R* a titruje se *thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS* za použití 2 ml *síranu amonno-železitého RS2* jako indikátoru do trvalého červenožlutého zbarvení.

<sup>1)</sup> fenylhydrargyriumorthoborátu



1 ml *thiokyanatanu amonného 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,06 mg Hg.

**Boritany.** 0,600 g se zahřátím rozpustí ve 25 ml *vody R*. V horkém roztoku se rozpustí 10 g *sorbitolu R*, ochladí se, přidá se 0,5 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do trvalého růžového zbarvení. Provede se slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 6,18 mg H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>.

### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

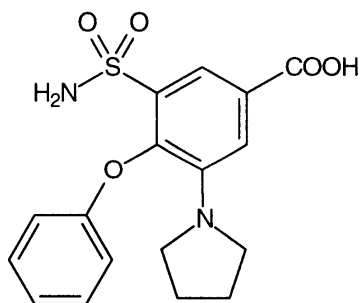
“

156. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Piperazinum hexahydricum doplňuje článek Piretanidum, který zní:

”

## † Piretanidum

Piretanid

  
2001C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S

M, 362,40

CAS 55837-27-9

Je to kyselina 4-fenoxy-3-(pyrrolidin-1-yl)-5-sulfamoylbenzoová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S.

### Vlastnosti

Žlutobílý až nažloutlý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v ethanolu.  
Vykazuje polymorfismus.

## Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *piretanidu CRL*. Pokud se spektra látek v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená i referenční látka v minimálním množství *acetonu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,1 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *ZŽ<sub>4</sub>* (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 20 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *ethanolu R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 45 + 45) a zředí se stejnou směsí na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10 mg *piretanidu CRL* a 3 mg *piretanidu nečistoty A CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *ethanolu R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 45 + 45) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 0,3 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *ethanolu R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 45 + 45) na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku připraveného takto: 1 ml *kyseliny trifluorové R* se přidá k 500 ml *vody R*, přidá se 1 ml *triethylaminu R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml (35 + 65). Průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 232 nm.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je relativní retenční čas nečistoty A asi 0,9. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistoty A a *piretanidu* je nejmeně 2.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající pětinašobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 3,33násobek plochy 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).

**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)*.

**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 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

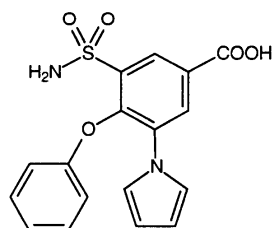
## Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí ve 25 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

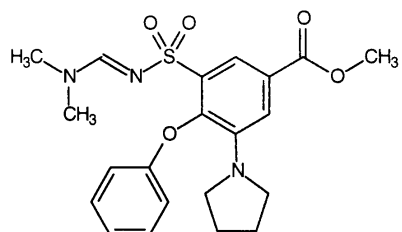
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 36,24 mg  $C_{17}H_{18}N_2O_5S$ .

## Uchovávání

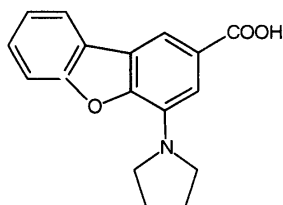
Chráněn před světlem.  
Separandum.

**Nečistoty**

A. kyselina 4-fenoxy-3-(1*H*-pyrrol-1-yl)-5-sulfamoylbenzoová,



B. methyl-3-[[[(dimethylamino)methylen]sulfamoyl]-4-fenoxy-5-(pyrrolidin-1-yl)benzoát<sup>1)</sup>,



C. kyselina 4-(pyrrolidin-1-yl)dibenzo[*b,d*]furan-2-karboxylová.

“

---

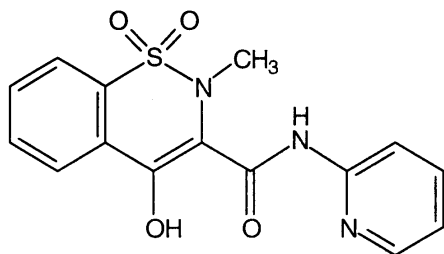
<sup>1)</sup> methyl-3-[[[(dimethylamino)methylen]sulfamoyl]-4-fenoxy-5-(pyrrolidin-1-yl)benzoát

157. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Piroxicamum zní:

”

## † Piroxicamum<sup>1)</sup>

Piroxikam

 $C_{15}H_{13}N_3O_4S$  $M_r$  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  $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě žlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v ethanolu.

Vykazuje polymorfismus.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *piroxikamu CRL*. Tablety se připraví s *bromidem draselným R*. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v minimálním objemu *dichlormethanu 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 pro test způsobilosti CRL* se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku 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:

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 13, 1, 76 (2001). Závazné od 1. 1. 2001.

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (5  $\mu\text{m}$ ),
- 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  $\mu\text{l}$  každého roztoku. Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající pětinasobku retenčního času piroxikamu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže profil chromatogramu porovnávacího roztoku (a) odpovídá profilu chromatogramu *piroxikamu pro test způsobilosti CRL*, relativní retenční čas píku nečistoty B je asi 0,85 a faktor symetrie 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 %). Nepřehlídí se k píkům, 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  $\mu\text{g/g}$ ). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku *olova* (10  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

**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).

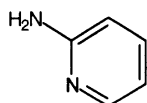
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 33,14 mg  $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ .

### Uchovávání

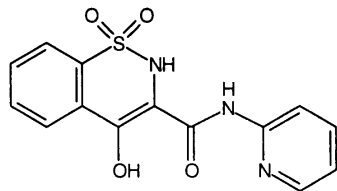
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

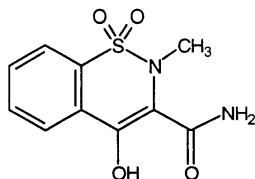
### Nečistoty



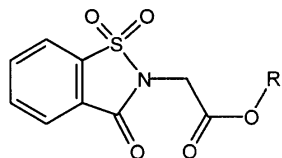
A. 2-pyridylamin,



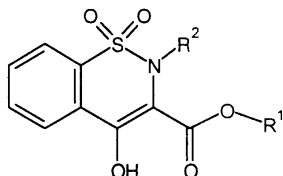
B. 4-hydroxy-3-[(2-pyridyl)aminokarbonyl]-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,



C. 4-hydroxy-3-karbamoyl-2-methyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,

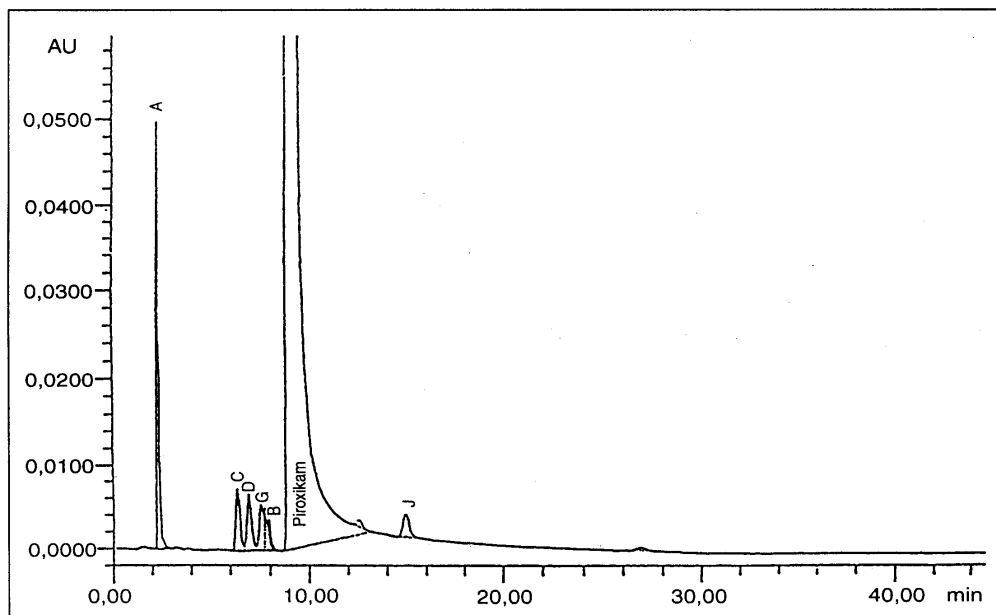


- D.  $R = \text{CH}_3$ : 2-[(methoxykarbonyl)methyl]-3-oxo-2,3-dihydro-1,2-benzisothiazol-1,1-dioxid,  
 E.  $R = \text{C}_2\text{H}_5$ : 2-[(ethoxykarbonyl)methyl]-3-oxo-2,3-dihydro-1,2-benzisothiazol-1,1-dioxid,  
 F.  $R = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ : 2-[(isopropyloxykarbonyl)methyl]-3-oxo-2,3-dihydro-1,2-benzisothiazol-1,1-dioxid,

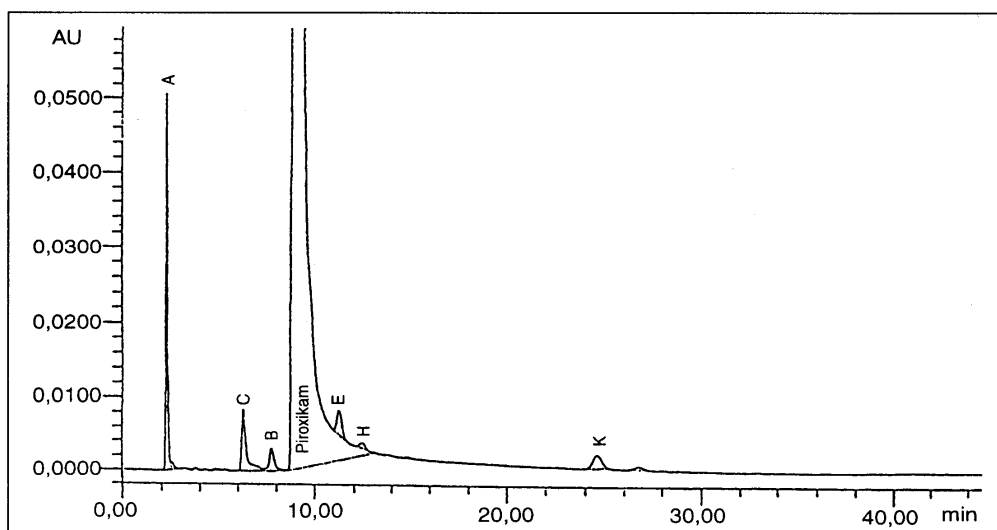


- G.  $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{H}$ : 4-hydroxy-3-methoxykarbonyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,  
 H.  $R^1 = \text{C}_2\text{H}_5$ ,  $R^2 = \text{H}$ : 3-ethoxykarbonyl-4-hydroxy-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,  
 I.  $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $R^2 = \text{H}$ : 4-hydroxy-3-isopropyloxykarbonyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,  
 J.  $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{CH}_3$ : 4-hydroxy-3-methoxykarbonyl-2-methyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,  
 K.  $R^1 = \text{C}_2\text{H}_5$ ,  $R^2 = \text{CH}_3$ : 3-ethoxykarbonyl-4-hydroxy-2-methyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,  
 L.  $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $R^2 = \text{CH}_3$ : 4-hydroxy-3-isopropyloxykarbonyl-2-methyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid.

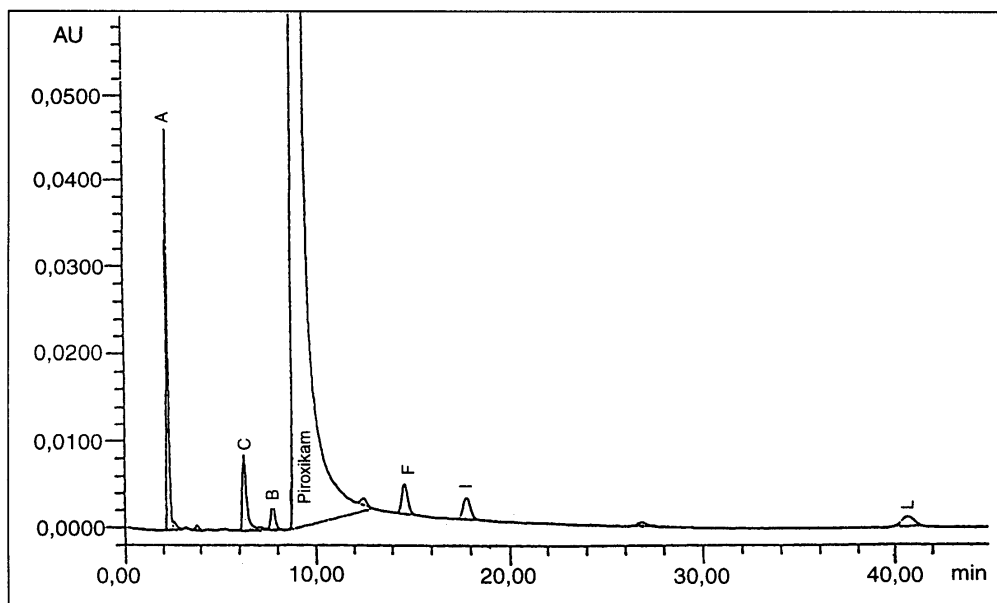
Následující vzory chromatogramů jsou pouze pro informaci a nejsou součástí požadavků článku.



**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

158. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Plasma humanum ad separationem zní:

”

## Plasma humanum ad separationem

Lidská plazma pro frakcionaci



2001

Je to tekutá část lidské krve zbývající po oddělení buněčných elementů z krve odebrané do obalu s antikoagulačním roztokem nebo oddělená průběžnou filtrací nebo odstředováním nesrážlivé krve během plazmaferézy. Je určena k výrobě přípravků z plazmy.

### Výroba

#### Dárci

Může se odebrat pouze pečlivě vybraným zdravým dárčům, u nichž je co možná nejvíce zjištěno lékařskou prohlídkou, laboratorními zkouškami krve a z anamnézy, že jsou prosti zjištěných původců těch nákaz, které se mohou přenést přípravky z plazmy. Doporučení v této oblasti jsou vypracována Radou Evropy v dokumentu o přípravě, použití a jistění jakosti krevních složek (*Recommendation No. R (95) 15 on the preparation, use and quality assurance of blood components* nebo následující revize) a Evropskou unií v dokumentu rady z 29. června 1998 o vhodnosti dárce krve a plazmy a vyšetření darované krve v Evropském společenství (*Council Recommendation of 29 June 1998 on the suitability of blood and plasma donors and the screening of donated blood in the European Community (98/463/EC)*).

**Imunizace dárců.** Záměrná imunizace dárců pro získání imunoglobulinů se specifickými aktivitami se může provést v případě, kdy nelze od přirozeně imunizovaných dárců zajistit dostatečné množství látky odpovídající kvality. Doporučení pro takovou imunizaci jsou formulována Světovou zdravotnickou organizací v požadavcích na odběry, zpracování a kontrolu jakosti krve, krevních složek a derivátů plazmy (*Requirements for the collection, processing and quality control of blood, blood components and plasma derivatives*, WHO Technical Report Series No. 840, 1994 nebo následující revize).

**Záznamy.** Záznamy o dárčích a provedených odběrech se uchovávají tak, aby při dodržení příslušného stupně důvěrnosti dat týkajících se osoby dárce bylo možno zpětně vyhledat původ každého odběru ve směsi plazmy a výsledky příslušného posouzení způsobilosti a laboratorních zkoušek.

**Laboratorní zkoušky.** Při každém odběru se provádějí laboratorní zkoušky na zjištění následujících virových markerů:

1. protilátek proti viru lidské imunodeficiency typ 1 (anti HIV-1),
2. protilátek proti viru lidské imunodeficiency typ 2 (anti HIV-2),
3. povrchového antigenu hepatitidy B (HbsAg),
4. protilátek proti viru hepatitidy C (anti-HCV).

K dosažení úplné shody ve výsledcích laboratorních zkoušek, může oprávněná autorita požadovat také vyšetření hladiny alanin-aminotransferasy (ALT).

Užívané zkušební metody mají přiměřenou citlivost a specifitu a jsou schváleny oprávněnou autoritou. Pokud se při jakémkoliv z těchto zkoušek opakovaně zjistí reaktivní nález, odběr se vyřadí.

#### Jednotlivé odběry plazmy

Plazma se připravuje metodou, která co možná nejdokonalěji odstraňuje krevní buňky a buněčnou drť. Ať se připravuje z lidské krve nebo plazmaferézou, odděluje se plazma od buněk metodou, která umožní vyloučit kontaminaci mikroorganismy. Do plazmy se nepřidávají žádné protibakteriální ani protiplísňové přísady. Obaly vyhovují požadavkům na skleněné obaly (3.2.1) nebo na obaly z plastů na krev a krevní složky (3.2.3). Obaly jsou uzavřeny tak, aby se předešlo kontaminaci.

Pokud se spojují dvě nebo více jednotek (tj. množství připravené z jednoho odběru) plazmy před zmrazením, používá se ke spojení obalů speciální přístroj ke sterilnímu spojení hadiček, nebo se spojení provede za aseptických podmínek za použití obalů, které nebyly předtím použity.



Plazma získaná plazmaferézou a určená k získání bílkovin, které jsou v plazmě labilní, se rychle zmrazí na teplotu  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  nebo nižší, co možná nejdříve, nejpozději však do 24 h od odběru.

Plazma získaná z plné krve a určená k získání bílkovin, které jsou v plazmě labilní se oddělí od buněčných elementů a rychle se zmrazí na teplotu  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  nebo nižší, co možná nejdříve, nejpozději však do 24 h od odběru.

Plazma získaná z plné krve a určená pouze k získání bílkovin, které nejsou labilní v plazmě, se oddělí od buněčných elementů a zmrazí se na teplotu  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  nebo nižší, co možná nejdříve, nejpozději však do 72 h od odběru.

*Stanovení celkových bílkovin a faktoru VIII se neprovádějí u každé jednotky plazmy. To je spíše dáno zásadami správné výrobní praxe; stanovení účinnosti faktoru VIII je důležité pro plazmu určenou pro přípravu koncentrátů labilních bílkovin.*

*Celkový obsah bílkovin v jednotce plazmy závisí na obsahu sérových bílkovin dárce a na stupni naředění během odběru. Když se plazma získá od vhodného dárce a odebere do zamýšleného množství antikoagulačního roztoku, získá se celkový obsah bílkovin, který vyhovuje hranici 50 g v litru. Jestliže se do antikoagulačního roztoku odebere objem krve nebo plazmy menší než původně zamýšlený, nemusí výsledná plazma být nezbytně nevhodná pro smíchání k frakcionaci. Cílem správné výrobní praxe je dosažení předepsaného limitu pro všechny normální odběry.*

*Uchování faktoru VIII v odebrané surovině závisí na postupu při odběru a na dalším zacházení s krví a plazmou. Při správné praxi se obvykle dosahuje koncentrace 0,7 m.j. v mililitru, ale i plazma s nižší aktivitou se může použít k výrobě koncentrátů koagulačních faktorů. Cílem správné výrobní praxe je zachovat taková množství labilních bílkovin, kolik je možno.*

**Celkové bílkoviny.** Nejméně 50 g/l. Stanoví se ve směsi nejméně deseti odběrů, která se zředí roztokem chloridu sodného R (9 g/l) tak, aby se získal roztok obsahující ve 2 ml asi 15 mg bílkovin. Ke 2,0 ml tohoto roztoku v centrifugační zkumavce s kulatým dnem se přidají 2 ml roztoku molybdenanu sodného R (75 g/l) a 2 ml směsi objemových dílů kyseliny sírové prosté dusíku R a vody R (1 + 30). Protřepe se, 5 min se odstředí, supernatantní tekutina se sleje a převrácená zkumavka se nechá odkapat na filtrační papír. Ve zbytku se stanoví dusík mineralizací kyselinou sírovou (2.5.9) a obsah bílkovin se vypočítá vynásobením výsledku faktorem 6,25.

**Faktor VIII.** Nejméně 0,7 m.j./ml. Stanovuje se ve směsi nejméně deseti odběrů, které se, je-li třeba, nechají roztát při teplotě  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Proveďte se zkouška Stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru VIII (2.7.4) za použití porovnávací plazmy kalibrované na mezinárodní referenční přípravek pro stanovení účinnosti krevního koagulačního faktoru VIII v plazmě.

### **Směsná plazma**

Při výrobě přípravků z plazmy se první homogenní směs plazmy (např. po odstranění kryoprecipitátu) zkouší na povrchový antigen hepatitidy B, na protilátky proti hepatidě C a na protilátky proti HIV metodami s vhodnou citlivostí a specificitou; směs dává negativní výsledky v těchto zkouškách.

Směs se také zkouší na RNK viru hepatitidy C validovanou zkouškou Techniky amplifikace nukleových kyselin (2.6.21). Do zkoušky se zařadí pozitivní kontrola obsahující, 100 m.j./ml RNK viru hepatitidy C, a pro zkoušení na inhibitory se připraví vnitřní kontrola přidáním vhodného markeru ke vzorku směsi plazmy. Zkoušku lze hodnotit, jestliže reaguje pozitivní kontrola a výsledky vnitřní kontroly neprokazují přítomnost inhibitorů. Směs plazmy vyhovuje zkoušce, jestliže nereaguje na RNK viru hepatitidy C.

### **Vlastnosti**

Před zmrazením čirá nebo slabě zakalená tekutina, bez viditelných známek hemolýzy; její barva je světle žlutá až zelená.

### **Uchování**

Zmrazená plazma se uchovává při teplotě  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  nebo nižší; pro frakcionaci se může použít ještě plazma, u které nejvýše jedenkrát teplota vystoupila nad  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a to nejvýše na 72 h, přičemž teplota nikdy nebyla vyšší než  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### **Označování**

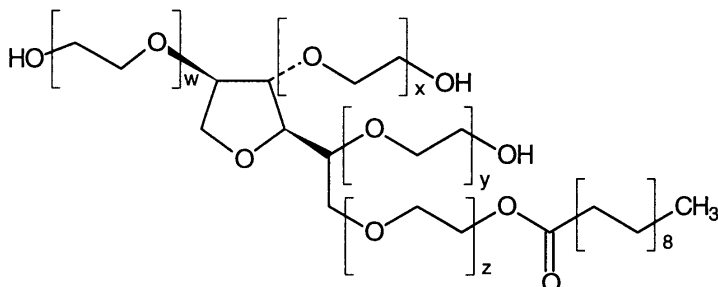
Označení umožňuje identifikaci každého jednotlivého odběru a určení příslušného dárce.

159. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Polysorbátum 60 a Polysorbátum 80 znějí:

”

## Polysorbátum 60

Polysorbát 60



$$w + x + y + z = 20$$

CAS 9005-67-8

Je to směs parciálních esterů kyseliny stearové se sorbitolem a jeho anhydridů kopolymerovaných s asi 20 moly ethylenoxidu na každý mol sorbitolu a sorbitolanhydridů. Kyselina stearová používaná k esterifikaci může obsahovat další mastné kyseliny, zejména kyselinu palmitovou.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

### Vlastnosti

Nažloutle hnědá gelovitá hmota, která se stává čirou kapalinou při teplotě nad asi 25 °C. Je mísitelný s vodou, s ethanolem, s ethylacetatem a s methanolem, prakticky nerozpustný v mastných olejích a v tekutém parafínu.

Relativní hustota je asi 1,10.

### Zkoušky totožnosti

- A. 0,5 g se rozpustí při asi 50 °C ve vodě R a zředí se jí na 10 ml. Při třepání roztok silně pění. Přidá se 0,5 g chloridu sodného R a zahřeje se k varu. Vzniklý zákal zmizí během ochlazení na asi 50 °C.
- B. Ke 4 g se přidá 40 ml roztoku hydroxidu draselného R (50 g/l) a vaří se 60 min pod zpětným chladičem ve vodní lázni. Po ochlazení na asi 80 °C se přidá 20 ml kyseliny dusičné zředěné RS a vaří se asi 10 min pod zpětným chladičem do odstranění emulze; mastná kyselina se oddělí na povrchu jako olejovitá kapalina. Po ochlazení na pokojovou teplotu se mastná kyselina přenes bez protřepání do dělicí nálevky za použití 100 ml etheru petrolejového R. Organická vrstva se promyje třikrát 10 ml vody R. Organická vrstva se odpaří do sucha na vodní lázni. Zbytek se suší 2 h v sušárně do vymizení zbytkových rozpouštědel. Číslo kyselosti (2.5.1) zbytku je 190 až 220; stanoví se s 0,50 g.

C. 0,1 g se rozpustí v 5 ml *chloroformu R*. Přidá se 0,1 g *thiokyanatanu draselného R* a 0,1 g *dusičnanu kobaltnatého R* a míchá se skleněnou tyčinkou; roztok zmodrá.

### Zkoušky na čistotu

**Číslo kyselosti (2.5.1).** Nejvýše 2,0; stanoví se s 5,0 g rozpuštěnými v 50 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Číslo hydroxylové (2.5.3, Metoda A).** 81 až 96; stanoví se s 2,0 g.

**Číslo jodové (2.5.4).** Nejvýše 5,0.

**Číslo zmýdelnění (2.5.6).** 45 až 55; stanoví se s 2,0 g. Použije se 15,0 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS*, před provedením titrace se zředí 50 ml *lihu 96% R*.

**Redukující látky.** 2,00 g se rozpustí ve 25 ml horké vody *R*, přidá se 25 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 0,1 ml *fero-inu RS*. Titruje se *hexanitratoceričitanem amonným 0,01 mol/l VS* za stálého protřepávání do změny červeného zbarvení na zelenomodré, které je stálé 30 s. Provede se slepá zkouška. Spotřebují se nejvýše 2,0 ml *hexanitratoceričitanu amonného 0,01 mol/l VS*.

**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)*.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,2 %. Ke 2,00 g v křemenném nebo platinovém kelímku se přidá 0,5 ml *kyseliny sírové R* a zahřívá se 2 h na vodní lázni. Opatrně se žihá při nízké teplotě do úplného zuhelnatění. K zuhelnatělé hmotě se přidají 2 ml *kyseliny dusičné R* a 0,25 ml *kyseliny sírové R*, opatrně se zahřívá, dokud se uvolňují bílé dýmy a žihá se při teplotě 600 °C do vymizení všech černých částic. Nechá se vychladnout, zváží se a žihání se opakuje vždy po 15 min do konstantní hmotnosti.

### Uchovávání

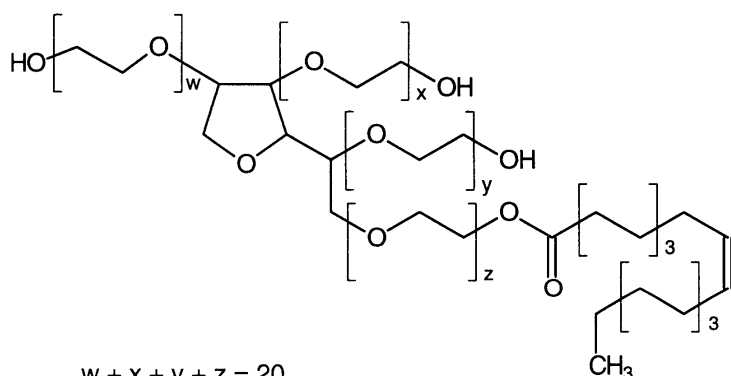
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

## Polysorbátum 80

Polysorbát 80



2001



CAS 9005-65-6

Je to směs parciálních esterů různých mastných kyselin, hlavně kyseliny olejové, se sorbitolem a jeho anhydridů kopolymerovaných s asi 20 moly ethylenoxidu na každý mol sorbitolu a sorbitolanhydridů. Frakce mastných kyselin může

být rostlinného nebo živočišného původu. Obsahuje nejméně 60,0 % kyseliny olejové a 90,0 % až 110,0 % obsahu uvedeného v označení.

## Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

**2-Chlorethanol, ethylenglykol a diethylenglykol.** Nejvýše 10 µg/g 2-chlorethanolu a nejvýše 0,25 % ethylenglykolu a diethylenglykolu celkem. Proveďte se head-space plynová chromatografie (2.2.28) za použití metody standardního přídatku.

**Zkoušený roztok.** 50 mg se naváží do 20ml lahvičky, přidají se 2,0 µl 2-propanolu R, lahvička se ihned uzavře a nechá se stát asi 2 min, v žádném případě ne více než 5 min.

**Porovnávací roztok.** 50 mg zkoušené látky se naváží do 20ml lahvičky, přidají se 2,0 µl roztoku obsahujícího 2-chlorethanol R (0,25 mg/ml), ethylenglykol R (31,25 mg/ml) a diethylenglykol R (31,25 mg/ml) ve 2-propanolu R, lahvička se ihned uzavře a nechá se stát asi 2 min, v žádném případě ne více než 5 min.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- head space vstřikovacího systému pro adsorpci a desorpci umístěného před chromatografickým systémem, který používá nerezovou ocelovou předkolonu délky 13,6 mm a vnitřního průměru 4 mm naplněnou ethylvinylbenzen-divinylbenzenem kopolymerem R jako adsorpční kolonu a helium pro chromatografii R jako nosný plyn při průtokové rychlosti 20 ml/min a přidávaný plyn při průtokové rychlosti 20 ml/min. Lahvičky se odděleně umístí do vodní lázně při 110 °C a během 5 min se začne probublávání, přičemž se adsorpční kolona udržuje na 50 °C; pokračuje se v probublávání po dobu 40 min. Pak se teplota adsorpční kolony zvýší na 210 °C a 5 min se nastříkuje do chromatografického systému,
- kapilární křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm se stěnou pokrytou makrogolem 20 000 pro chromatografii R (tloušťka filmu je 1 µm),
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu s lineární rychlostí 60 cm/s,

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
kolona	0 - 6	60		izotermicky
	6 - 16	60 → 110	5	lineární gradient
	16 - 31	110 → 230	8	lineární gradient
	31 - 36	230		izotermicky
nástřikový prostor		150		
detektor		260		

- plamenoionizačního detektoru.

Obsah 2-chlorethanolu, ethylenglykolu a diethylenglykolu se vypočítá z ploch píků a z koncentrace roztoků.

## Vlastnosti

Olejovitá nažloutlá nebo nahnědlá žlutá čirá kapalina. Je mísitelný s vodou, s ethanolem, s ethylacetatem a s methanolem, prakticky nerozpustný v mastných olejích a v parafinu tekutém.

Relativní hustota je asi 1,08. Viskozita při 25 °C je asi 400 mPa.s.

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a C.

Alternativní sestava zkoušek: A, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** 0,5 g se rozpustí ve vodě R při asi 50 °C a zředí se jí na 10 ml. Při třepání roztok silně pění. Přidá se 0,5 g chloridu sodného R a roztok se zahřeje k varu; vzniklý zákal zmizí během ochlazení na asi 50 °C.

- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá referenčnímu spektru *Ph. Eur. polysorbatu 80* při následujících vlnových délkách: 720 cm<sup>-1</sup>, 1110 cm<sup>-1</sup>, 1250 cm<sup>-1</sup>, 1300 cm<sup>-1</sup>, 1350 cm<sup>-1</sup>, 1640 cm<sup>-1</sup>, 1740 cm<sup>-1</sup>, 2850 cm<sup>-1</sup>, 2920 cm<sup>-1</sup> a 3480 cm<sup>-1</sup>.
- C.** Stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.
- D.** Ke 2 ml roztoku (50 g/l) se přidá 0,5 ml *bromové vody R*; směs se odbarví.
- E.** 0,1 g se rozpustí v 5 ml *dichlormethanu R*. Přidá se 0,1 g *thiokyanatanu draselného R* a 0,1 g *dusičnanu kobaltnatého R* a míchá se skleněnou tyčinkou; roztok zmodrá.

### Zkoušky na čistotu

**Číslo kyselosti** (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 5,0 g rozpuštěnými v 50 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Číslo hydroxylové** (2.5.3, *Metoda A*). 65 až 80; stanoví se s 2,0 g zkoušené látky.

**Číslo peroxidové** (2.5.5). Nejvýše 10.

**Číslo zmydelnění** (2.5.6). 45 až 55; stanoví se s 2,0 g. Použije se 15,0 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS*, před provedením titrace se zředí 50 ml *vody R*.

**Zbytkový ethylenoxid a dioxan** (2.4.25, *Systém A*). Nejvýše 1 µg/g zbytkového ethylenoxidu a nejvýše 10 µg/g zbytkového dioxanu. Při stanovení obsahu zbytkového dioxanu se k výpočtu použije korekční faktor 1/5.

**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)*.

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,25 %. Ke 2,00 g v křemenném nebo platinovém kelímku se přidá 0,5 ml *kyseliny sírové R* a zahřívá se 2 h na vodní lázni. Opatrně se žihá při nízké teplotě do úplného zuhelnatění. K zuhelnatělé hmotě se přidají 2 ml *kyseliny dusičné R* a 0,25 ml *kyseliny sírové R*, pak se opatrně zahřívá, dokud se uvolňují bílé dýmy, a žihá se při teplotě 600 °C do vymizení všech černých částic. Nechá se vychladnout, zvaží se a žihání se opakuje vždy po 15 min do konstantní hmotnosti.

**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 vsťíkne na 1 kg hmotnosti králíka 5,0 ml roztoku (2 mg/ml) zkoušené látky v roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l).

### Stanovení obsahu

Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 0,10 g se v 25ml kuželové baňce rozpustí ve 2 ml *hydroxidu sodného v methanolu RS1* a vaří se 30 min pod zpětným chladičem. Zpětným chladičem se přidají 2,0 ml roztoku *fluoridu boritého R* (140 g/l) v *methanolu R* a vaří se 30 min. Pak se zpětným chladičem přidají 4 ml *heptanu R* a vaří se 5 min. Po ochlazení se přidá 10,0 ml nasyceného roztoku *chloridu sodného R*, třepa se asi 15 s a přidá se takové množství nasyceného roztoku *chloridu sodného R*, aby horní vrstva vystoupila do hrdla baňky. 1 ml horní vrstvy se odebere a usuší se nad *síranem sodným bezvodým R*.

**Porovnávací roztok.** 0,02 g *methyloleatu R* se rozpustí v *heptanu R* a zředí se jím na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *heptanem R* na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R* (tloušťka filmu je 0,5 µm),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při lineární rychlosti 50 cm/s,
- plamenoionizačního detektoru.

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
kolona	0 - 4 4 - 38 38 - 53	70 70 → 240 240 280	5	izotermicky lineární gradient izotermicky
nástřikový prostor				

Nastříkne se 0,1 µl zkoušeného roztoku a 0,1 µl porovnávacího roztoku. Retenční čas methylesteru kyseliny olejové je asi 35 min. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času hlavního píku. Z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku se vypočítá obsah kyseliny olejové v procentech metodou normalizace. Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,16 %).

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- obsah kyseliny olejové ve frakci mastných kyselin,
- kde je to vhodné, zda je látka prostá pyrogenních látek.

“

160. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Primaquini diphosphas zní:

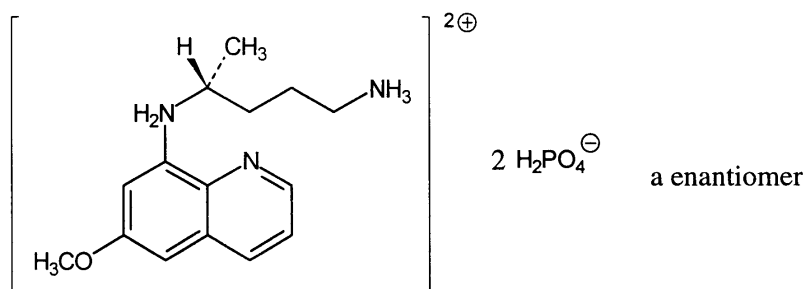
”

## † Primaquini diphosphas

Primachiniumdifosfat



2001



$C_{15}H_{27}N_3O_9P_2$

$M_r$  455,34

CAS 63-45-6

Je to (*RS*)-*N*-4-(6-methoxy-8-chinolyl)-1,4-pentandiamonium-bis(dihydrogenfosfát)<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{15}H_{27}N_3O_9P_2$ .

<sup>1)</sup> (*RS*)-*N*-4-(6-methoxy-8-chinolyl)-1,4-pentandiamonium-bis(dihydrogenfosfát)

## Vlastnosti

Oranžový krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.  
Taje při asi 200 °C, za rozkladu.

## Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek: B a D.*

*Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).*

- A.** 15 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS* a zředí se jí na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 310 nm až 450 nm. Absorpční maxima jsou při 332 nm a 415 nm. Specifické absorbance v maximech jsou 45 až 52 a 27 až 35. 5,0 ml roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* na 50,0 ml. Tento roztok měřený při 215 nm až 310 nm vykazuje tři absorpční maxima, při 225 nm, 265 nm a 282 nm. Specifické absorbance v maximech jsou 495 až 515, 335 až 350 a 330 až 345.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *primachiniumdifosfatu CRL*. Látky se zkouší ve formě tablet připravených takto: 0,1 g zkoušené látky se rozpustí v 5 ml *vody R*, přidají se 2 ml *amoniaku zředěného RS2*, 5 ml *dichlormethanu R* a protřepe se. Dichlormethanová vrstva se vysuší nad 0,5 g *síranu sodného bezvodého R*. Připraví se kontrolní tableta za použití 0,3 g *bromidu draselného R* a na ni se po kapkách nanese 0,1 ml dichlormethanové vrstvy, přičemž chloroform se nechá vždy mezi kapáním odpařit. Pak se tableta suší 2 min při 50 °C.
- C.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*. Všechny postupy je třeba provádět co nejrychleji a za ochrany před světlem. Zkoušený roztok a porovnávací roztok se připraví těsně před použitím.  
*Zkoušený roztok.* 0,20 g se rozpustí v 5 ml *vody R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R* na 10 ml.  
*Porovnávací roztok.* 20 mg *primachiniumdifosfatu CRL* se rozpustí v 5 ml *vody R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.  
Vrstva se promyje směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 40 + 60) a nechá se vysušit na vzduchu. Pak se na ni nanese odděleně po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se uvedenou směsí rozpouštědel použitou při promytí vrstvy po dráze 15 cm. Vrstva se nechá usušit 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.** 50 mg se rozpustí v 5 ml *vody R*, přidají se 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a protřepe se dvakrát s 5 ml *dichlormethanu R*; vodná vrstva, okyselená *kyselinou dusičnou R*, vyhovuje zkoušce (b) na fosforečnany (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 50 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 5,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml *amoniaku 26% R* a protřepe se s 10,0 ml mobilní fáze. Použije se čirá spodní vrstva.

*Porovnávací roztok (a).* 50 mg *primachiniumdifosfatu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 5,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml *amoniaku 26% R* a protřepe se s 10,0 ml mobilní fáze. Použije se čirá spodní vrstva.

*Porovnávací roztok (b).* 3,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,2 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (10 µm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R*, *dichlormethanu R* a *hexanu R* (0,1 + 10 + 45 + 45); průtoková rychlost je 3,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 261 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se po 20  $\mu$ l každého roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající nejméně dvojnásobku retenčního času primachinu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je těsně před hlavním píkem pík s plochou asi 6 % plochy hlavního píku a rozlišení mezi těmito píky je nejméně 2,0; na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je poměr signálu hlavního píku k šumu nejméně 5. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3,0 %). Nepřihlíží se k píku rozpouštědla a k píkům s plochou menší, než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

### Stanovení obsahu

0,2000 g se rozpustí mírným zahřátím ve 40 ml *kyseliny octové bezvodé R*. Po ochlazení 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 22,77 mg  $C_{15}H_{27}N_3O_9P_2$ .

### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

“

161. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Procaini benzylpenicillinum zní:

”

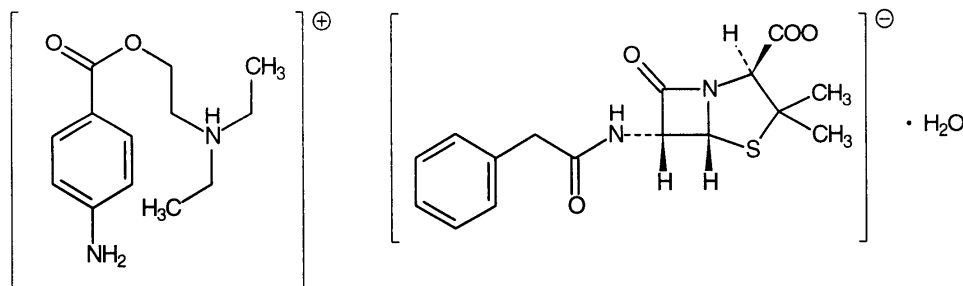
## † Procaini benzylpenicillinum monohydricum

Monohydrát prokain-benzylpenicilinu

*Synonyma.* Benzylpenicillinum procainum, Benzylpenicillinum procainicum, Procainum-penicillinum G, Procaini benzylpenicillinum



2001



$C_{29}H_{38}N_4O_6S \cdot H_2O$

$M_r$  588,72  
 $M_r$  bezvodého 570,70

CAS 6130-64-9



Je to monohydrát soli kyseliny (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(fenylacetyl)amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3,2,0]heptan-2-karboxylové<sup>1)</sup> s *N,N*-diethyl-2-[(4-aminobenzoyloxy)ethyl]aminem<sup>2)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 96,0 % až 102,0 % prokain-benzylpenicilinu (počítáno jako C<sub>29</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>S) a 39,0 % až 42,0 % prokainu (C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; *M<sub>r</sub>* 236,31). Může být přidán stabilizátor disperze nebo suspenze částic (např. lecithin, polysorbát 80).

## Výroba

Vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

## Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%.

## Zkoušky totožnosti

*Základní zkouška: A.*

*Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).*

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *prokain-benzylpenicilinu CRL*.

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

*Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí v 5 ml *acetonu R*.

*Porovnávací roztok.* 25 mg *prokain-benzylpenicilinu CRL* se rozpustí v 5 ml *acetonu R*.

Na vrstvu se nanese po 1 µl obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a roztoku *octanu amoniáku R* (154 g/l), jehož pH bylo upraveno *amoniakem 17,5% RS* na hodnotu 7,0, (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se nechá usušit na vzduchu, vystaví se působení par jodu do vzniku skvrn a pozoruje se v denním světle. Dvě hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou, zbarvením a velikostí dvěma hlavním skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**C.** Asi 2 mg se převedou do zkumavky dlouhé asi 150 mm a o průměru 15 mm, zvlhčí se 0,05 ml *vody R* a přidají se 2 ml *formaldehydu v kyselině sírové RS*. Obsah zkumavky se promíchá krouživým pohybem; roztok je prakticky bezbarvý. Zkumavka se na 1 min vloží do vodní lázně; vzniká červenohnědé zbarvení.

**D.** 0,1 g se rozpustí ve 2 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Vzniklý roztok, který může být zakalený, vyhovuje zkoušce na primární aromatické aminy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,0 až 7,5; měří se tento roztok: 50 mg se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R*, zředí se jí na 15 ml a protřepává se do úplného rozpuštění.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +165° až +180°, počítáno na bezvodou látku; měří se následující roztok: 0,250 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) postupem uvedeným ve Stanovení obsahu. Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (c). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku odpovídajícího benzylpenicilinu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 10 µl zkoušeného roztoku (a) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času píku benzylpenicilinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha píku odpovídajícího kyselině 4-aminobenzoové není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,024 %); plocha žádného píku, kromě dvou hlavních píků a píku odpovídajícího kyselině 4-aminobenzoové, není větší než plocha píku odpovídajícího benzylpenicilinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1 %).

<sup>1)</sup> kyseliny (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(fenylacetyl)amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3,2,0]heptan-2-karboxylové

<sup>2)</sup> *N,N*-diethyl-2-[(4-aminobenzoyloxy)ethyl]aminem

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 2,8 % až 4,2 %; 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, Metoda E). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,10 m.j. endotoxinu v miligramu.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se připravují těsně před použitím.*

*Zkoušený roztok (a).* 70,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 70,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 70,0 mg *prokain-benzylpenicilinu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 4 mg *kyseliny 4-aminobenzoové CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 25 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 16,8 mg *kyseliny 4-aminobenzoové R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 10,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- ocelové nerezové kolony 0,25 m dlouhé a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, která je směsí připravenou následujícím způsobem: smíchá se 250 ml *acetonitrilu R*, 250 ml *vody R* a 500 ml roztoku obsahujícího 14 g/l *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 6,5 g/l roztoku *tetrabutylamoniumhydroxidu R* (400 g/l), jehož pH se upraví *hydroxidem draselným 1 mol/l RS* na hodnotu 7,0; je-li třeba, upraví se pH směsí *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 7,2; průtoková rychlost je 1,75 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 225 nm.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (b). Je-li chromatogram zaznamenáván za předepsaných podmínek, látky se eluují v následujícím pořadí: kyselina 4-aminobenzoová, prokain, benzylpenicilin. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku odpovídajícího kyselině 4-aminobenzoové byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (kyselina 4-aminobenzoová) a druhým píkem (prokain) je nejméně 2,0. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi. Nastříkne se porovnávací roztok (a) šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy dvou píků není větší než 1,0 %. Nastříkne se střídavě zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (a).

Vypočítá se procentuální obsah prokainu a prokain-benzylpenicilinu. Prokain-benzylpenicilin se vypočítá vynásobením obsahu benzylpenicillinu číslem 1,67.

### Uchovávání

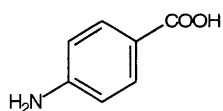
Ve vzduchotěsných obalech. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech. Separandum.

### Označování

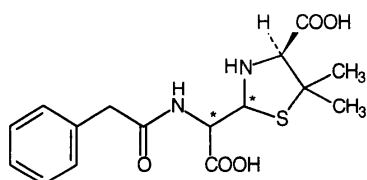
V označení na obalu se uvede název a množství přidaného stabilizátoru disperze nebo suspenze:

- kde je to vhodné, zda je látka sterilní,
- kde je to vhodné, zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

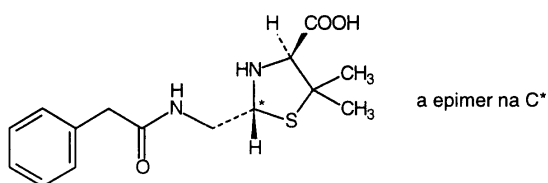
## Nečistoty



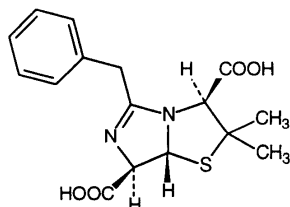
A. kyselina 4-aminobenzoová,



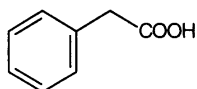
B. kyselina (4*S*)-2-{karboxy[(fenylacetyl)amino]methyl}-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilové kyseliny benzylpenicilinu),



C. kyselina (2*RS*,4*S*)-2-[(fenylacetyl)amino]methyl-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penilové kyseliny benzylpenicilinu),



D. kyselina (3*S*,7*R*,7*aR*)-5-benzyl-2,2-dimethyl-2,3,7,7*a*-tetrahydroimidazo[5,1-*b*]thiazol-3,7-dikarboxylová (penilová kyselina benzylpenicilinu),



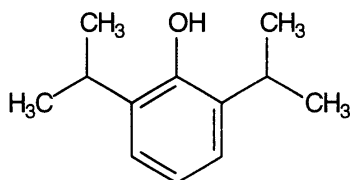
E. kyselina fenylactová.

162. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Propanthelini bromidum doplňuje článek Propofolum, který zní:

”

## Propofolum

Propofol

 $C_{12}H_{18}O$  $M_r$  178,27

CAS 2078-54-8

Je to 2,6-diisopropylfenol. Obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{12}H_{18}O$ .

### Vlastnosti

Bezbarvá nebo velmi slabě žlutá čirá kapalina. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, je mísitelný s hexanem a methanolem.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *propofolu CRL*. Měří se látky jako tenký film mezi destičkami *bromidu draselného R*.

### Zkoušky na čistotu

**Index lomu** (2.2.6). 1,5125 až 1,5145.

**Nečistota J.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Roztoky se připravují v čas potřebný za ochrany před světlem.*

**Zkoušený roztok.** 0,5 g se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok.** 5  $\mu$ l *propofolu nečistoty J CRL* (odpovídající 5 mg) se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *hexanem R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se provede způsobem uvedeným ve zkoušce Příbuzné látky s tím rozdílem, že místo při 275 nm se provede detekce při 254 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající šestinásobku retenčního času píku propofolu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího nečistotě J větší než pětinašobek plochy píku nečistoty J na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,05 %).

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným v odstavci Stanovení obsahu.

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a) a chromatogram se zaznamenává po dobu 15 min. Rozlišení mezi dvěma hlavními píky (nečistoty J s přibližným retenčním časem 2,5 min a propofolu s přibližným retenčním časem 3 min) je nejméně 4,0.

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) a lokalizují se píky nečistoty G (relativní retenční čas je asi 0,5) a nečistoty E (relativní retenční čas je asi 5), vzhledem k propofolu.

Nastříkne se odděleně 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku propofolu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku (a) a 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c) a chromatogram zkoušeného roztoku (a) se zaznamenává po dobu odpovídající šestinásobku retenčního času propofolu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není plocha píku odpovídající nečistotě G větší než 0,4násobek plochy píku propofolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,2 %, do výpočtu se zahrne odezvvý faktor 0,2); a plocha píku nečistoty E není větší než 0,4násobek plochy píku propofolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,01 %, do výpočtu se zahrne odezvvý faktor 4,0). Plocha žádného dalšího píku, kromě píku propofolu a obou nečistot, není větší než 0,5násobek plochy píku propofolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,05 %). Součet všech nečistot, včetně nečistoty G a nečistoty E, není větší než 0,3 %. Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,25násobek plochy píku propofolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,025 %).

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok (a).* 1,00 g se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 0,240 g se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 5  $\mu$ l zkoušené látky a 15  $\mu$ l *propofolu nečistoty J CRL* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml *propofolu pro test způsobilosti CRL* se zředí *hexanem R* na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *hexanem R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *hexanem R* na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 0,240 g *propofolu CRL* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

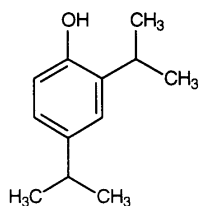
- nerezové ocelové kolony délky 0,20 m a vnitřního průměru 5 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *ethanolu R*, *acetonitrilu R* a *hexanu R* (1,0 + 7,5 + 990); průtoková rychlost je 2,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 275 nm.

Nastříkne se 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku (b) a 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (d) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající pětinásobku retenčního času propofolu.

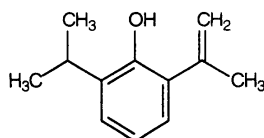
## Uchovávání

Chráněn před světlem pod inertním plynem.

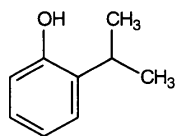
## Nečistoty



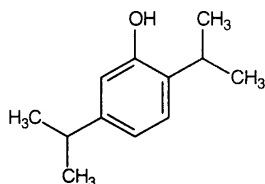
A. 2,4-diisopropylfenol,



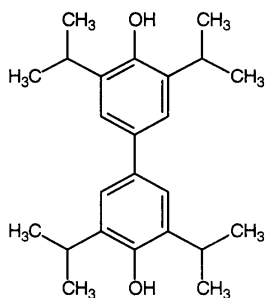
B. 6-isopropyl-2-(1-methylvinyl)fenol,



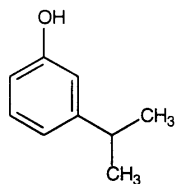
C. 2-isopropylfenol,



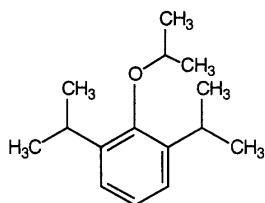
D. 2,5-diisopropylfenol,



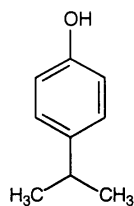
E. 3,3',5,5'-tetraisopropylbifeny-4,4'-diol,



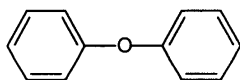
F. 3-isopropylfenol,



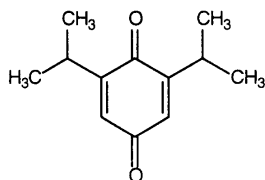
G. 1,3-diisopropyl-2-isopropoxybenzen,



H. 4-isopropylfenol,



I. difenylether,



J. 2,6-diisopropyl-1,4-benzochinon.

“

163. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Protirelinum zní:

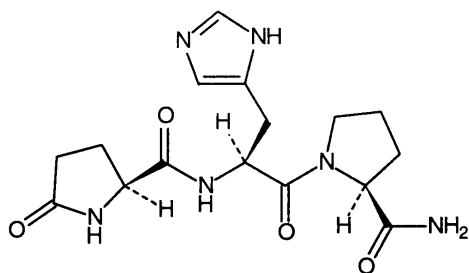
”

## † Protirelinum

Protirelin



2001



$C_{16}H_{22}N_6O_4$

$M_r$  362,39

CAS 24 305-27-9

Je to syntetický tripeptid 5-oxo-L-prolyl-L-histidyl-L-prolinamid, ve kterém je pořadí aminokyselin stejné jako v přírodním neurohormonu hypothalamu, který stimuluje uvolňování a syntézu thyrotropinu. Počítáno na bezvodou a kyseliny octové prostou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{16}H_{22}N_6O_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo žlutobílý hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu.

### Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *protirelinu* CRL.

**B.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Stanovení obsahu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku přibližně odpovídá retenčním časem a velikostí hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** Roztok zkoušené látky (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).  $-62^{\circ}$  až  $-70^{\circ}$ , počítáno na bezvodou a kyseliny octové prostou látku. 10 mg zkoušené látky se rozpustí v 1,0 ml vody R.

**Příbuzné peptidy.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

**Zkoušený roztok.** 5,0 mg se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 5,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** Obsah lahvičky *D-His-protirelinu CRL* se rozpustí ve vhodném objemu mobilní fáze A tak, aby konečná koncentrace tohoto roztoku byla 1 mg/ml. Smíchají se stejné objemové díly tohoto roztoku a zkoušeného roztoku.

**Porovnávací roztok (b).** 0,2 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází A na 10,0 ml.

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Pomocí porovnávacího chromatogramu *D-His-protirelinu CRL* se identifikují píky *D-His-protirelinu* a *protirelinu*. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píkem *protirelinu* a píkem *D-His-protirelinu* nejméně 2,5 a symetrie píku *protirelinu* je 0,9 až 1,2. Je-li třeba, upraví se počáteční složení mobilní fáze nebo profil gradientu.

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % rozsahu stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu asi 40 min. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3 %). Nepřihlíží se k pikům rozpouštědla a k pikům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %).

**Kyselina octová** (2.5.34). Nejvýše 2,0 %.

**Zkoušený roztok.** 40,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (5 + 95) a zředí se stejnou směsí rozpouštědlem na 10,0 ml.

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 7,0 %; 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 0,7 m.j. v miligramu.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 5,0 mg se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 5,0 ml.

**Porovnávací roztok.** Obsah lahvičky *protirelinu CRL* se zředí mobilní fází A tak, aby konečná koncentrace tohoto roztoku byla 1,0 mg/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) (velikost pórů 12 nm),
- mobilní fáze při průtokové rychlosti 1 ml/min:
  - *mobilní fáze A* - je to směs složená z 1900 ml vody R, 100 ml *acetonitrilu pro chromatografii R* a 2,0 g *oktansulfonanu sodného R* obsahující 2,5 ml/l *tetraethylamoniumhydroxidu RS*; pH roztoku se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,5,
  - *mobilní fáze B* - je to směs složená z 1700 ml vody R, 300 ml *acetonitrilu pro chromatografii R* a 2,0 g *oktansulfonanu sodného R* obsahující 2,5 ml/l *tetraethylamoniumhydroxidu RS*; pH roztoku se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,5,



Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 30	74 → 41	26 → 59
30 - 35	41 → 74	59 → 26
35 - 50	74	26

- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Kolona se promývá směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (74 + 26).

Nastříkne se 10 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu asi 40 min.

Obsah protirelinu ( $C_{16}H_{22}N_6O_4$ ) se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku a deklarovaného obsahu  $C_{16}H_{22}N_6O_4$  v *protirelinu CRL*.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Jestliže je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- hmotnost peptidu v obalu,
- kde je to vhodné, zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů,
- kde je to vhodné, zda je látka sterilní.

“

164. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Pyridoxini hydrochloridum zní:

”

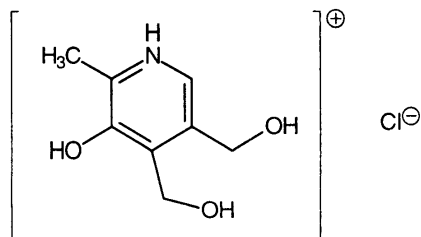
## † Pyridoxini hydrochloridum

Pyridoxiniumchlorid

*Synonyma.* Pyridoxolium chloratum, Pyridoxinium chloratum, vitamin B<sub>6</sub>



2001



$C_8H_{12}ClNO_3$

$M_r$  205,64

CAS 58-56-0

Je to 3-hydroxy-4,5-bis(hydroxymethyl)-2-methylpyridiniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>ClNO<sub>3</sub>.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.  
Taje při asi 205 °C, za rozkladu.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** 1,0 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS na 50,0 ml (roztok a). 1,0 ml roztoku (a) se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS na 100 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku při 250 nm až 350 nm (2.2.25). Absorpční maximum roztoku je při 288 nm až 296 nm. Specifická absorbance v maximum je 425 až 445. 1,0 ml roztoku (a) se zředí na 100,0 ml roztokem dihydrogenfosforečnanu draselného 0,025 mol/l RS a hydrogenfosforečnanu sodného 0,025 mol/l RS (2.2.3). Tento roztok měřený při 220 nm až 350 nm vykazuje dvě absorpční maxima, při 248 nm až 256 nm a při 320 nm až 327 nm. Specifické absorbance v maximech jsou v rozmezí 175 až 195 a 345 až 365.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *pyridoxinium chloridu CRL*.
- C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D.** Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 2,50 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 50,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>7</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 2,4 až 3,0; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

**Zkoušený roztok (a).** 1,0 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 10 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 0,10 g pyridoxiniumchloridu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 2,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 10 ml.

Na vrstvu se nanese po 2 μl každého roztoku a vyvíjí se v nenasyčené komoře směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *dichlormethanu R*, *tetrahydrofuranu R* a *acetonu R* (9 + 13 + 13 + 65) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se roztokem *uhličitanu sodného R* (50 g/l) ve směsí objemových dílů *lihu 96% R* a *vody R* (30 + 70). Po vysušení v proudu vzduchu se vrstva postříká roztokem *dichlorchinonchlorimidu R* (1 g/l) v *lihu 96% R* a ihned se pozoruje. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %). Ke skvrnám na startu se nepřihlíží.

**Těžké kovy** (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 μg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (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.

---

<sup>1)</sup> 3-hydroxy-4,5-bis(hydroxymethyl)-2-methylpyridinium-chlorid

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 50 ml *lihu 96% R*. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma infexními body.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,56 mg  $C_8H_{12}ClNO_3$ .

### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

“

165. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Riboflavinum* doplňuje článek *Ricini oleum hydrogenatum*, který zní:

”

---

## Ricini oleum hydrogenatum

Ricinový olej hydrogenovaný



2001

CAS 8001-78-3

Je to olej získaný hydrogenací ricinového oleje panenského (*Ricini oleum virginale*). Obsahuje převážně triacylglyceroly kyseliny 12-hydroxystearové.

### Vlastnosti

Téměř bílý nebo světle žlutý jemný prášek nebo téměř bílá nebo světle žlutá hmota nebo vločky. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, těžce rozpustný v etheru petrolejovém a velmi těžce rozpustný v ethanolu.

### Zkoušky totožnosti

- A. Teplota tání (2.2.14). 83 °C až 88 °C.
- B. Zkouška Číslo hydroxylové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Číslo kyselosti** (2.5.1). Nejvýše 4,0; stanoví se s 10,0 g rozpuštěnými v 75 ml horkého *lihu 96% R*.

**Číslo hydroxylové** (2.5.3, *Metoda A*). 145 až 165; stanoví se s teplým roztokem.

**Číslo jodové** (2.5.4). Nejvýše 5,0.

**Zásadité reagující látky.** 1,0 g se rozpustí mírným zahřátím ve směsi 1,5 ml *lihu 96% R* a 3 ml *toluenu R* a přidá se 0,05 ml roztoku *modří bromfenolové R* (0,4 g/l) v *lihu 96% R*. Ke změně zbarvení indikátoru na žluté se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Podíl mastných kyselin.** Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 75 mg se naváží do 10ml odstředivací zkumavky se šroubovacím uzávěrem a třepáním a mírným zahřátím na 50 °C až 60 °C se rozpustí ve 2 ml *terc. butylmethyletheru R1*. K ještě teplému roztoku se přidá 1 ml roztoku *sodíku R* (12 g/l) v *methanolu bezvodém R*, připraveném s potřebnou opatrností, a nejméně 5 min se intenzivně míchá. Potom se přidá 5 ml *vody destilované R*, asi 30 s se opět intenzivně míchá a pak se 15 min odstředí uje při 1500 g<sub>n</sub>. Použije se horní vrstva.  
**Porovnávací roztok.** 50 mg *methyl 12-hydroxystearatu CRL* a 50 mg *methylsteearatu CRL* se rozpustí v 10,0 ml *terc. butylmethyletheru R1*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřním povrchem pokrytým *makro-golem 20 000 R* (tloušťka filmu 0,25 μm),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 0,9 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- injektorové smyčky (1 : 100).

Teplota kolony se udržuje 55 min na 215 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru se udržuje na 250 °C.

Nastříkne se po 1 μl obou roztoků.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže kritéria testu způsobilosti odpovídají stati (2.4.22, *Metoda A*).

Podíl jednotlivých mastných kyselin v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$A_{x,s,c} / \sum A_{x,s,c} \cdot 100,$$

v němž značí:

$A_{x,s,c}$  - korigovanou plochu píku mastné kyseliny ve zkoušeném roztoku:

$$A_{x,s,c} = A_{x,s} \cdot R_c,$$

$R_c$  - relativní korekční faktor pro píky methylesteru kyseliny 12-hydroxystearové a methylesteru kyseliny 9,10-dihydroxystearové:

$$R_c = \frac{m_{1,r} \cdot A_{2,r}}{A_{1,r} \cdot m_{2,r}},$$

v němž značí:

$R_c$  - 1 pro píky odpovídající každé ze sledovaných nebo nesledovaných mastných kyselin,

$m_{1,r}$  - navážku methylesteru kyseliny 12-hydroxystearové v porovnávacím roztoku,

$m_{2,r}$  - navážku methylsteearatu v porovnávacím roztoku,

$A_{1,r}$  - plochu píku odpovídajícího methylesteru kyseliny 12-hydroxystearové na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$A_{2,r}$  - plochu píku methylsteearatu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$A_{x,s}$  - plochy píků odpovídajících methylesterům sledovaných i nesledovaných mastných kyselin.

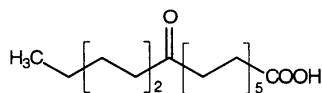
Podíl mastných kyselin je následující:

- kyselina palmitová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina stearová: 7,0 % až 14,0 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 0,5 %,
- kyselina 12-oxostearová (délkou řetězce odpovídá makrogolu 20 000 : 22,7): nejvýše 5,0 %,
- kyselina 12-hydroxystearová (délkou řetězce odpovídá makrogolu 20 000 : 23,9): 78,0 % až 91,0 %,
- kyselina 9,10-dihydroxystearová (délkou řetězce odpovídá makrogolu 20 000 : 25,8): 0,3 % až 0,7 %,
- jakákoliv další mastná kyselina: nejvýše 3,0 %.

**Nikl** (2.4.27). Nejvýše 1 μg/g.

## Uchovávání

V dobře naplněných obalech.

**Nečistoty**

A. kyselina 12-oxostearová.

“

166. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ricini oleum zní:

”

**Ricini oleum virginale**

Ricinový olej panenský

*Synonymum.* Oleum ricini, Ricini oleum virginum



2001

CAS 8001-79-4

Je to mastný olej získaný lisováním za studena ze semen druhu *Ricinus communis* L. Může být přidána vhodná antioxidační přísada.

**Vlastnosti**

Čirá téměř bezbarvá nebo slabě žlutá viskózní hygroskopická kapalina. Je těžce rozpustný v etheru petrolejovém, mísitelný s lihem 96% a s kyselinou octovou ledovou.

Index lomu je asi 1,479 a relativní hustota je asi 0,958.

**Zkoušky totožnosti**

Základní zkouška: D.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Zkouška Optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

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

C. Zkouška Číslo jodové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

D. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

**Zkoušky na čistotu**

**Optická otáčivost** (2.2.7). +3,5° až +6,0°.

**Absorbance** (2.2.25). 1,0 g se smíchá s lihem 96% R a zředí se jím na 100,0 ml. Roztok vykazuje maximum při 269 nm. Specifická absorbance v maximu je nejvýše 1,5.

**Číslo kyselosti** (2.5.1). Nejvýše 2,0; 5,0 g se rozpustí v 25 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Číslo hydroxylové (2.5.3, Metoda A).** Nejméně 150.

**Číslo jodové (2.5.4).** 82 až 90.

**Číslo peroxidové (2.5.5).** Nejvýše 10,0.

**Nezmýdelnitelné látky (2.5.7).** Nejvýše 0,8 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

**Podíl mastných kyselin.** Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 75 mg se naváží do 10ml odstředivací zkumavky se šroubovacím uzávěrem a třepáním a mírným zahřátím (50 °C až 60 °C) se rozpustí ve 2 ml *terc. butylmethyletheru R1*. K ještě teplému roztoku se přidá 1 ml roztoku *sodíku R* (12 g/l) v *methanolu bezvodém R*, připraveném s potřebnou opatrností, a nejméně 5 min se intenzivně míchá. Potom se přidá 5 ml *vody destilované R*, asi 30 s se opět intenzivně míchá a pak se 15 min odstředuje při 1500 g<sub>n</sub>. Použije se horní vrstva.

**Porovnávací roztok.** 50 mg *methylricinoleatu CRL* a 50 mg *methylstearatu CRL* se rozpustí v 10,0 ml *terc. butylmethyletheru R1*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm, jejíž vnitřní povrch je pokryt *makro-golem 20 000 R* (tloušťka filmu 0,25 μm),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 0,9 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- injektorové smyčky (1 : 100).

Teplota kolony se udržuje 55 min na 215 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru se udržuje na 250 °C.

Nastříkne se po 1 μl obou roztoků.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže kritéria testu způsobilosti odpovídají stati (2.4.22, Metoda A).

Podíl jednotlivých mastných kyselin v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$A_{x,s,c} / \sum A_{x,s,c} \cdot 100,$$

v němž značí:

$A_{x,s,c}$  - korigovanou plochu píku mastné kyseliny ve zkoušeném roztoku:

$$A_{x,s,c} = A_{x,s} \cdot R_c,$$

$R_c$  - relativní korekční faktor pro píky *methylricinoleatu* a *methylesteru kyseliny 9,10-dihydroxystearové* podle vztahu:

$$R_c = \frac{m_{1,r} \cdot A_{2,r}}{A_{1,r} \cdot m_{2,r}},$$

v němž značí:

$R_c$  - 1 pro píky odpovídající každé ze sledovaných nebo nesledovaných mastných kyselin,

$m_{1,r}$  - navážku *methylricinoleatu* v porovnávacím roztoku,

$m_{2,r}$  - navážku *methylstearatu* v porovnávacím roztoku,

$A_{1,r}$  - plochu píku odpovídajícího *methylricinoleatu* na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$A_{2,r}$  - plochu píku *methylstearatu* na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$A_{x,s}$  - plochu píků odpovídajících *methylesterům* sledovaných nebo nesledovaných mastných kyselin.

Podíl mastných kyselin v oleji je následující:

- kyselina palmitová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina stearová: nejvýše 2,5 %,
- kyselina olejová a isomery (C18:1 délkou řetězce odpovídá makrogolu 20 000: 18,3): 2,5 % až 6,0 %,
- kyselina linolová (C18:2 délkou řetězce odpovídá makrogolu 20 000: 18,8): 2,5 % až 7,0 %,
- kyselina linolenová (C18:3 délkou řetězce odpovídá makrogolu 20 000: 19,2): nejvýše 1,0 %,
- kyselina ikosenová (C20:1 délkou řetězce odpovídá makrogolu 20 000: 20,2): nejvýše 1,0 %,
- kyselina ricinolejová (délkou řetězce odpovídá makrogolu 20 000: 23,9): 85,0 % až 92,0 %,
- kyselina 9,10-dihydroxystearová (délkou řetězce odpovídá makrogolu 20 000: 25,8): 0,3 % až 0,7 %,
- jakákoliv další mastná kyselina: nejvýše 1,0 %.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 0,3 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

### Uchovávání

Ve zcela naplněných obalech, chráněn před světlem, při teplotě nepřevyšující 25 °C.

### Označování

V označení na obalu se uvede název a množství případně přidané antioxidační přísady.

“

167. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Rifamycinum natricum doplňuje článek Risperidonum, který zní:

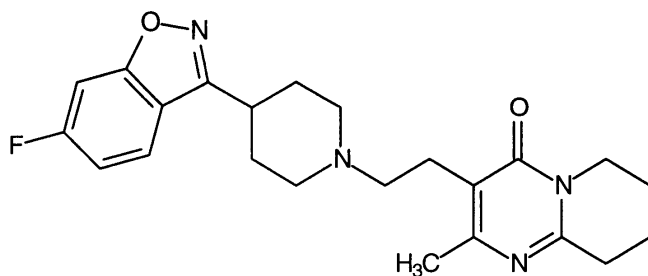
”

## † Risperidonum

Risperidon



2001

 $C_{23}H_{27}FN_4O_2$  $M_r$  410,49

CAS 106266-06-2

Je to 3-{2-[4-(6-fluor-1,2-benzisoxazol-3-yl)piperidin-1-yl]ethyl}-2-methyl-6,7,8,9-tetrahydro-4H-pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{23}H_{27}FN_4O_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v lihu 96 %, rozpouští se ve zředěných kyselinách.

Vyazuje polymorfismus.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *risperidonu CRL*. Pokud se získaná spektra liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v malém množství *acetonu R*, odpaří se do sucha a se získanými zbytky se zaznamenají nová spektra.

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,1 g se rozpustí v roztoku *kyseliny vinné R* (7,5 g/l) a zředí se stejnou kyselinou na 100 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 5,0 mg *risperidonu CRL* a 5,0 mg *haloperidolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 250,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (3 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min:
  - mobilní fáze A - roztok *octanu amonného R* (5 g/l),
  - mobilní fáze B - *methanol R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 15	70 → 30	30 → 70	lineární gradient
15 - 20	30	70	izokraticky
20 - 21	30 → 70	70 → 30	přechod na počáteční složení eluentu
21 - 25	70	30	znovuustalování
25 = 0	70	30	znovuspuštění gradientu

- spektrofotometrického detektoru, 260 nm.

Kolona se nejméně 10 min ustaluje promýváním mobilní fází počátečního složení při průtokové rychlosti 1 ml/min.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška dvou píků na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: *risperidonu* asi 10,5 min a *haloperidolu* asi 11 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky *risperidonu* a *haloperidolu* nejméně 3,0. Je-li třeba, upraví se koncentrace *methanolu* v mobilní fázi nebo se upraví doba programu pro lineární gradientovou eluci.

Nastříkne se 10 μl *methanolu R* jako kontrolní tekutiny, 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) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %). Nepřihlíží se k píkům kontrolní tekutiny a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 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 v platinovém kelímku.

## Stanovení obsahu

0,160 g se rozpustí v 70 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7) a titruje se *kyselinou chloristou* 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé* 0,1 mol/l VS odpovídá 20,53 mg C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>.

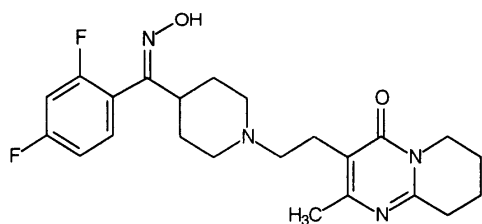
## Uchovávání

Chráněn před světlem.

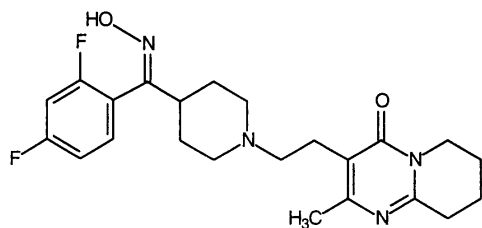
Separandum.



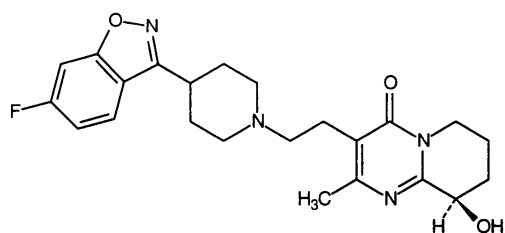
## Nečistoty



A. 3-(2-{4-[(*E*)-(2,4-difluorfenyl)(hydroxyimino)methyl]piperidin-1-yl}ethyl)-2-methyl-6,7,8,9-tetrahydro-4*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-on,

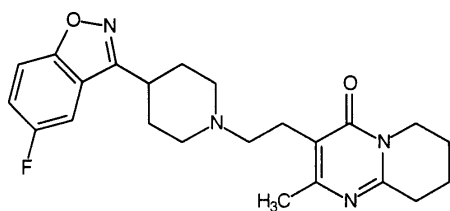


B. 3-(2-{4-[(*Z*)-(2,4-difluorfenyl)(hydroxyimino)methyl]piperidin-1-yl}ethyl)-2-methyl-6,7,8,9-tetrahydro-4*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-on,

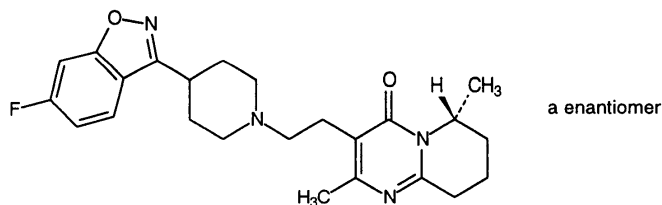


a enantiomer

C. (9*RS*)-3-{2-[4-(6-fluor-1,2-benzisoxazol-3-yl)piperidin-1-yl]ethyl}-9-hydroxy-2-methyl-6,7,8,9-tetrahydro-4*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-on,



D. 3-{2-[4-(5-fluor-1,2-benzisoxazol-3-yl)piperidin-1-yl]ethyl}-2-methyl-6,7,8,9-tetrahydro-4*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-on,



E. (6*RS*)-3-{2-[4-(6-fluor-1,2-benzisoxazol-3-yl)piperidin-1-yl]ethyl}-2,6-dimethyl-6,7,8,9-tetrahydro-4*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-on.

66

168. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Rosmarini etheroleum doplňuje článek Rosmarini folium, který zní:

”

## Rosmarini folium

Rozmarýnový list

*Synonymum.* Folium rosmarini



2001

Je to celý nebo řezaný usušený list druhu *Rosmarinus officinalis* L. Obsahuje nejméně 12 ml silice v 1 kilogramu drogy, počítáno na bezvodou drogu.

### Vlastnosti

Droga má výrazný aromatický pach.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A. List čárkovitý až čárkovitě kopinatý, 10 mm až 40 mm dlouhý a 2 mm až 4 mm široký, přisedlý, tuhý, s podvinutými okraji. Na svrchní straně tmavě zelený a lysý, na spodní straně šedozelený a plstnatý s výraznou střední žilkou.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je šedozelený až nažloutle zelený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: pokožka spodní strany listu z buněk se stěnami přímými nebo vlnitě zprohýbanými, růžencovitě ztlustlými, s četnými diacytickými průduchy (2.8.3); úlomky pokožky horní strany listu z buněk se stěnami přímými, mírně ztlustlými a tečkovanými, pod ní ležící jednovrstevná až vícevrstevná hypodermis z velkých nepravidelných buněk se ztlustlými antiklinálními stěnami; pod hypodermis je jednořadý až dvouřadý palisádový parenchym uspořádaný do tvaru velkého srpku; četné mnohobuněčné, silně rozvětvené krycí chlupy; žláznaté chlupy dvou typů: převažují chlupy s krátkou jednobuněčnou nohou a hlavičkou z osmi paprscitě uspořádaných buněk, méně četné chlupy mají jednobuněčnou nohu a kulovitou jednobuněčnou nebo dvoubuněčnou hlavičku.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu *G* pro TLC *R*.  
Zkoušený roztok. 20 µl silice ze Stanovení obsahu se rozpustí v 1 ml *hexanu R*.

*Porovnávací roztok.* 5 mg *borneolu R*, 5 mg *bornylacetatu R* a 10 µl *cineolu R* se rozpustí v 1 ml *hexanu R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů po 10 µl obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (5 + 95) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *vanilinem RS*, zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C a do 10 min se pozoruje v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině fialově modrá skvrna (*borneol*), nad ní modrá skvrna (*cineol*) a ve střední třetině modrošedá skvrna (*bornylacetat*). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou tři skvrny odpovídající polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další skvrny: v dolní třetině fialověmodré až fialověšedé, ve střední třetině fialověrůžová a v horní třetině fialověšedá, v blízkosti čela chromatogramu intenzivní fialová.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi** (2.8.2). Nejvýše 5 % stonků a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

**Voda**, stanovení destilací (2.2.13). Nejvýše 10,0 %; použije se prášková droga (355).

**Celkový popel** (2.4.16). Nejvýše 9 %.

### Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 25,0 g rozdrčené drogy se destiluje 3 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min v 1000ml baňce se 300 ml *vody R* jako destilační tekutiny.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

“

169. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Roxithromycinum* doplňuje článek *Sacchari sphaerae*, který zní:

”

---

## Sacchari sphaerae

Zrněný cukr

*Synonymum.* *Sacchari spheri*



2001

Počítáno na vysušený základ, obsahuje nejvýše 92 % sacharosy. Zbytek obsahuje kukuřičný škrob a může také obsahovat škrobové hydrolyzáty a přísady barviv. Průměr cukrových zrn se obvykle pohybuje mezi 200 µm a 2000 µm a horní i dolní meze velikosti cukrových zrn jsou uvedeny v označení na obalu.

### Zkoušky totožnosti

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

*Zkoušený roztok.* 2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se smíchají se 3 ml *methanolu R* a zředí se směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (2 + 3) na 20 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg sacharosy CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a methanolu R (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg fruktosy CRL, 10 mg glukosy CRL, 10 mg laktosy CRL a 10 mg sacharosy CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a methanolu R (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Na vrstvu se nanese po 2 µl každého roztoku a nanesené skvrny se důkladně usuší. Vyvijí se směsí objemových dílů vody R, methanolu R, kyseliny octové bezvodé R a dichlorethanu R (10 + 15 + 25 + 50) po dráze 15 cm. Rozpouštědla mají být odměřena přesně, i malý přebytek vody může způsobit zákal. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu. Vyvíjení se ihned opakuje v čerstvě připravené směsi rozpouštědel. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu, rovnoměrně se postříká roztokem thymolu R (5 g/l) ve směsi objemových dílů kyseliny sírové R a lihu 96% R (5 + 95) a zahřívá se 10 min při 130 °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 čtyři zřetelně oddělené skvrny.

- B.** K vodné řídké kaši nerozpustného podílu získaného při Stanovení obsahu se přidá 0,05 ml jodu RS1; vznikne tmavě modré zbarvení, které zahřátím vymizí.
- C.** K 5 ml roztoku S se přidá 0,15 ml čerstvě připraveného síranu měďnatého RS a 2 ml čerstvě připraveného hydroxidu sodného zředěného RS; roztok je modrý a čirý a zůstane takový i po zahřátí k varu. K horkému roztoku se přidají 4 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 1 min se vaří. Pak se přidají 4 ml hydroxidu sodného zředěného RS; ihned vznikne oranžová sraženina.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** Ke 0,5 g se ve 100ml odměrné baňce přidá 80 ml vody R, třepe se do rozpuštění sacharosy. Zředí se vodou R na 100,0 ml. Čirý roztok se získá filtrací pod vakuem.

**Jemnost (2.9.12).** Nejméně 90 % zrn má velikost v rozmezí uvedeném v označení na obalu.

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (5 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1,0 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 5,0 %; 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 2,00 g zkoušené látky.

**Mikrobiální znečištění.** Celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše 10<sup>3</sup> bakterií a nejvýše 10<sup>2</sup> hub v gramu, stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

### Stanovení obsahu

#### Obsah sacharosy

10,000 g rozetřených cukrových zrn se odváží do 100ml dělené baňky a doplní se vodou R na 100,0 ml. Míchá se a dekantuje. Filtruje se pod vakuem (nerozpustný podíl se použije ve zkoušce totožnosti B) do získání čirého roztoku. Měří se úhel optické otáčivosti (2.2.7) a obsah sacharosy v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{10^6 \cdot \alpha}{66,5 \cdot l \cdot m \cdot (100 - H)}$$

v němž značí:

$\alpha$  - úhel otočení,

$l$  - délku polarimetrické trubice v decimetrech,

$m$  - přesnou navážku zkoušené látky v gramech,

$H$  - ztrátu sušením.

### Označování

V označení na obalu se uvedou:

- horní i dolní meze velikosti zrn,
- jakékoliv přidané přísady barviv,
- jakékoliv přidané hydrolyzáty škrobu.

“

170. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Salbutamol* doplňuje článek *Salicis cortex*, který zní:

”

## Salicis cortex

Vrbová kůra

*Synonymum.* Cortex salicis



Je to celá usušená kůra mladých větví, nebo její úlomky, nebo celé usušené kousky letorostů různých druhů rodu *Salix*, včetně druhů *S. purpurea* L., *S. daphnoides* VILL. a *S. fragilis* L.

Obsahuje nejméně 1,5 % salicylových derivátů, počítáno jako salicin ( $C_{13}H_{18}O_7$ ,  $M_r$  286,3), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Droga je zřetelně hořká.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

**A.** Kůra je 1 mm až 2 mm silná, tvoří ohebné, podlouhlé, žlábkovité nebo ohnuté kousky. Zevní strana hladká nebo jemně podélně vrásčitá, zelenožlutá až hnědošedá. Vnitřní strana hladká nebo jemně podélně rýhovaná a v závislosti na druhu bílá, světle žlutá nebo červenohnědá. Lom v zevní části krátký, ve vnitřní části hrubě vláknitý. Průměr letorostů nepřesahuje 10 mm. Dřevo je bílé nebo světle žluté.

**B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je světle žlutý, zelenožlutý nebo světle hnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: svazky úzkých vláken lýka až asi 600  $\mu$ m dlouhých, se silně ztlustlými stěnami jsou provázány průvodními vlákny obsahujícími hranolovité krystaly šťavelanu vápenatého; parenchym kůry z buněk se stěnami ztlustlými, tečkovanými, uzlinovitými, každá z buněk obsahuje velkou drůzu šťavelanu vápenatého; jednořadé dřeňové paprsky; ztlustlé a zkorkovatělé buňky korku. Mohou být přítomné i části nahnědlého kolenchymu pupenů a úlomky dřevnatělého lýka a cév dřeva letorostů.

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

*Zkoušený roztok (a).* 1,0 g práškové drogy (500) se smíchá s 2 ml *methanolu R* a zahřívá se 10 min ve vodní lázni při asi 50 °C za častého protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje.

*Zkoušený roztok (b).* K 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 1,0 ml roztoku *uhličitanu sodného bezvodého R* (50 g/l) a zahřívá se 10 min ve vodní lázni při asi 60 °C. Je-li třeba, po ochlazení se zfiltruje.

*Porovnávací roztok.* 2,0 mg *salicinu R* se rozpustí v 1,0 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů po 20  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *methanolu R* a *ethylacetatu R* (8 + 15 + 77) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu. Postříká se směsí objemových dílů *kyse-*

liny sírové *R* a methanolu *R* (5 + 95), zahřívá se 5 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části červenofialová skvrna (salicin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) je skvrna odpovídající salicinu slabé až střední intenzity. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) je skvrna odpovídající salicinu zřetelně intenzivnější a nad ní je jedna (salikortin nebo 2'-O-acetylsalikortin) nebo případně dvě (tremulacin) nevýrazné červenofialové skvrny. Na obou chromatogramech mohou být další modré, žluté nebo hnědé skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi (2.8.2).** Nejvýše 3 % větviček o průměru větším než 10 mm a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 11 %; 1,000 g práškové drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 10 %.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za použití *resorcinolu R* jako vnitřního standardu.

*Roztok vnitřního standardu.* 50 mg *resorcinolu R* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*.

*Zkoušený roztok.* K 0,5 g práškové drogy (355) se přidá 50 ml *methanolu R* a zahřívá se 30 min pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje. Ke zbytku drogy se přidá 50 ml *methanolu R* a postup se opakuje. Spojené filtráty se odpaří za sníženého tlaku. Zbytek po odpaření se rozpustí v 5,0 ml *methanolu R*, přidá se 5,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a zahřívá se 1 h na vodní lázni pod zpětným chladičem při asi 60 °C za častého protřepávání. Po ochlazení se přidá 0,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS*. Roztok se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (50 + 50) na 20,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a zfiltruje se přes membránový filtr.

*Porovnávací roztok (a).* 18,5 mg *salicinu R* se rozpustí v 10,0 ml směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (20 + 80) a přidá se 1,0 ml roztoku vnitřního standardu.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 mg *piceinu R* se rozpustí v 1,0 ml porovnávacího roztoku (a).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 3 mm nebo 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *tetrahydrofuranu R* a *vody R* (1,8 + 98,2) obsahující roztok *kyseliny fosforečné R 0,5 % (V/V)*; průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 270 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky salicinu a piceinu a mezi píky piceinu a *resorcinolu* je nejméně 1,5.

Nastříkne se pětikrát 10 μl porovnávacího roztoku (a).

Nastříkne se třikrát 10 μl zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času píky salicinu.

Obsah salicylových derivátů celkem v procentech, vyjádřen jako salicin (C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>7</sub>), se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{S_1 \cdot S_4 \cdot m_2 \cdot p \cdot 2}{S_2 \cdot S_3 \cdot m_1}$$

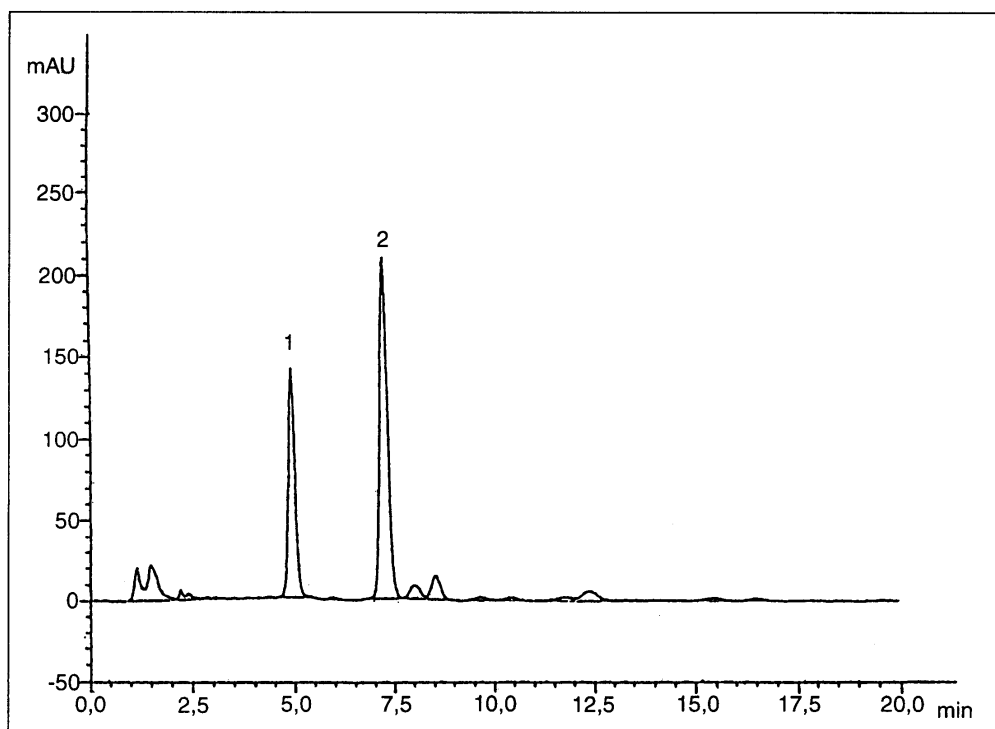
v němž značí:

- S*<sub>1</sub> - plochu píky salicinu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- S*<sub>2</sub> - plochu píky *resorcinolu* na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- S*<sub>3</sub> - plochu píky salicinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),
- S*<sub>4</sub> - plochu píky *resorcinolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),
- m*<sub>1</sub> - návážku drogy ve zkoušeném roztoku v miligramech,
- m*<sub>2</sub> - návážku *salicinu R* v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,
- p* - obsah salicinu v porovnávací látce v procentech.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

*Následující chromatogram je uveden pro informaci a netvoří součást požadavků článku*



**Obr. 1** Vzor chromatogramu salicylových derivátů vrbové kůry s resorcinolem jako vnitřním standardem

1 = salicin

2 = resorcinol

171. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Salviae officinalis folium* doplňuje článek *Salviae trilobae folium*, který zní:

”

## **Salviae trilobae folium**

Šalvějový list

*Synonymum.* Folium salviae trilobae



Je to celý nebo řezaný usušený list druhu *Salvia fruticosa* MILL. (*S. triloba* L. fil). Neřezaná droga obsahuje nejméně 18 ml silice v 1 kilogramu drogy a řezaná droga obsahuje nejméně 12 ml silice v 1 kilogramu drogy, obojí vztaženo na bezvodou drogu.

### **Vlastnosti**

Droga má po rozetření kořeněný pach po eukalyptové silici.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### **Zkoušky totožnosti**

- A.** Čepel listu je asi 8 mm až 50 mm dlouhá a asi 4 mm až 20 mm široká, oválně vejčitá až kopinatá, na obou stranách hustě chlupatá, na okraji nevýrazně jemně vroubkovaná, zvlněná. List na bázi tupý, často nese jeden nebo dva více nebo méně vyvinuté přílistky. List na svrchní straně šedoplstnatý, na spodní straně běloplstnatý, žilnatina nezřetelná. Běloplstnatý řapík má průměr asi 1 mm.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je šedozelený a plstnatý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: četné krycí a žláznaté chlupy a jejich úlomky, spolu s úlomky pokožky; krycí chlupy mnohobuněčné, jednořadé, se ztlustlými stěnami a rýhovanou kutikulou, nahoře jsou rýhy přímé, dole jsou delší, četnější, zkroucené; některé žláznaté chlupy s jednobuněčnou až čtyřbuněčnou nohou a jednobuněčnou nebo dvoubuněčnou hlavičkou, většina však má krátkou, jednobuněčnou nohu a hlavičku z osmi paprčité uspořádaných buněk, pokrytých měchýřkovitou kutikulou; pokožka svrchní strany listu z buněk někdy mnohohranných s tečkovanými, růžencovitými stěnami, s roztroušenými diacytickými průduchy (2.8.3); pokožka spodní strany listu z buněk se stěnami zprohýbanými až vlnitě zprohýbanými a četnými diacytickými průduchy.
- C.** Hodnotí se chromatogram ze zkoušky Thujon, viz Zkoušky na čistotu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je modrá skvrna odpovídající velikostí a intenzitou zbarvení skvrně cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku, nebo tuto skvrnu velikostí a intenzitou zbarvení převyšuje. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další skvrny.

### **Zkoušky na čistotu**

**Thujon.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 0,3 g čerstvě práškové drogy (355) se protřepává 5 min s 5,0 ml *ethanolu R*.

*Porovnávací roztok.* 20 µl *thujonu R* a 25 µl *cineolu R* se rozpustí ve 20 ml *ethanolu R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů po 20 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (5 + 95) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (200 g/l) v *ethanolu R* a zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části modrá skvrna (cineol) a v horní části růžovomodrá skvrna (thujon). Na chromatogramu zkoušeného roztoku skvrna odpovídající thujonu není patrná, nebo je jen velmi slabě růžovomodře zbarvena.



**Cizí příměsí (2.8.2).** Nejvýše 8 % stonků a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

**Voda,** stanovení destilací (2.2.13). Nejvýše 10,0 %; stanoví se s 20,0 g drogy.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 10,0 %.

### Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 20,0 g drogy, rozdrobněné je-li třeba, bezprostředně před stanovením, se destiluje 2 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min v 500ml baňce s 250 ml vody *R* jako destilační kapaliny. Do dělené zkumavky se přidá 0,50 ml xylenu *R*.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

“

172. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Scopolamini hydrobromidum zní:

”

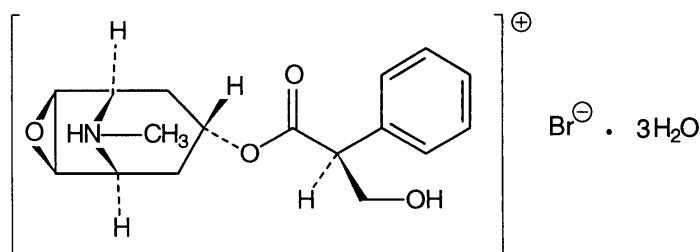
## †† Scopolamini hydrobromidum trihydricum

Trihydrát skopolaminiumbromidu

*Synonyma.* Hyoscini hydrobromidum, Scopolamini hydrobromidum



2001



$C_{17}H_{22}BrNO_4 \cdot 3H_2O$

$M_r$  438,31

CAS 6533-68-2

Je to trihydrát (1*S*,3*s*,5*R*,6*R*,7*S*)-6,7-epoxy-3-[(*S*)-(2-fenyl-3-hydroxypropionyl)oxy]-8-methyl-8-azabicyklo[3,2,1]-oktan-8-iumbromidu<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{17}H_{22}BrNO_4$ .

<sup>1)</sup> trihydrát (1*S*,3*s*,5*R*,6*R*,7*S*)-6,7-epoxy-3-[(*S*)-(2-fenyl-3-hydroxypropionyl)oxy]-8-methyl-8-azabicyklo[3.2.1]oktan-8-ium-bromidu

## Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly, na vzduchu zvětrávající. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Taje při asi 197 °C, za rozkladu; teplota tání se stanoví po sušení ve vakuu po dobu 24 h a pak při 100 °C až 105 °C po dobu 2 h.

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady (1.2)*.

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru trihydrátu skopolaminiumbromidu CRL. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, postupuje se takto: 3 mg zkoušené látky se rozpustí v 1 ml lihu 96% R a odpaří se na vodní lázni do sucha. Zbytek se rozpustí v 0,5 ml dichlormethanu R, přidá se 0,2 g bromidu draselného R, 15 ml etheru R, nechá se 5 min stát za občasného protřepání a dekantuje se. Zbytek se suší na vodní lázni tak dlouho, dokud nevyjmizí pach rozpouštědla. Ze zbytku se připraví tableta, která se suší 3 h při 100 °C až 105 °C. Stejným způsobem se připraví tableta trihydrátu skopolaminiumbromidu CRL a zaznamenají se nová spektra.

C. 50 mg se rozpustí v 5 ml vody R a přidá se po kapkách za protřepávání 5 ml trinitrofenolu RS. Vzniklá sraženina se promyje vodou R a suší se 2 h při 100 °C až 105 °C; taje (2.2.14) při 188 °C až 193 °C.

D. K asi 1 mg se přidá 0,2 ml kyseliny dusičné dýmové R a odpaří se ve vodní lázni do sucha. Zbytek se rozpustí ve 2 ml acetonu R a přidá se 0,1 ml roztoku hydroxidu draselného R (30 g/l) v methanolu R; vzniká fialové zbarvení.

E. Vyhovuje zkouškám na bromidy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,50 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 50,0 ml.

Hodnota pH (2.2.3). 4,0 až 5,5; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7).  $-24^{\circ}$  až  $-27^{\circ}$ , počítáno na bezvodou látku; měří se roztok S.

Cizí alkaloidy a rozkladné produkty. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

Zkoušený roztok. 0,2 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 ml zkoušeného roztoku se zředí methanolem R na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí methanolem R na 10 ml.

Na vrstvu se nanese po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 26% R, methanolu R, acetonu R a chloroformu R (2 + 10 + 30 + 50) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 15 min při 100 °C až 105 °C a po ochlazení se postříká jodobismutitanem draselným zředěným RS do vzniku skvrn. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,0 %) a nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se ke žluté skvrně na startu.

Apoxyocin. Asi 0,5 %; 0,10 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 245 nm. Specifická absorbance, počítaná na bezvodou látku, není větší než 3,6.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 10,0 % až 13,0 %; stanoví se s 0,20 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Stanovení obsahu**

0,300 g se rozpustí ve směsi 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 (2.2.20) bodu ekvivalence. Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 38,43 mg  $C_{17}H_{22}BrNO_4$ .

**Uchovávání**

Ve vzduchotěsných zcela naplněných maloobjemových obalech, chráněn před světlem, při teplotě pod 15 °C. Venenum.

“

173. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Selegilini hydrochloridum zní:

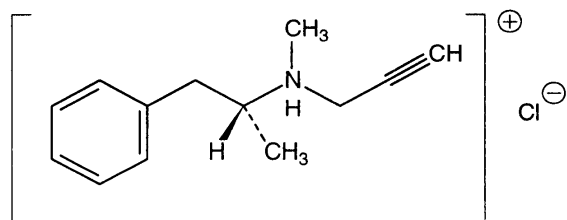
”

**† Selegilini hydrochloridum**

Selegiliniumchlorid



2001

 $C_{13}H_{18}ClN$  $M_r$  223,74

CAS 14611-52-0

Je to N-[(2*R*)-1-fenyl-2-propyl]-N-methyl-(2-propin-1-yl)amoniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{13}H_{18}ClN$ .

**Vlastnosti**

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, těžce rozpustný v acetonu. Taje při asi 143 °C.

<sup>1)</sup> N-[(2*R*)-1-fenylpropan-2-yl]-N-methylprop-2-yn-1-ylamonium-chlorid

### Zkoušky totožnosti

- A. 2,000 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 20,0 ml. Specifická optická otáčivost (2.2.7) je  $-10,0^\circ$  až  $-12,0^\circ$ , počítáno na vysušenou látku.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *selegiliniumchloridu CRL*. Tablety se připraví za použití *chloridu draselného R*.
- C. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,5 až 4,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,20 g ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 20 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50,0 mg *selegiliniumchloridu CRL* a 10,0 mg *butylparabenu R* 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.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku 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 oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí připravené takto: 500 ml *acetonitrilu R* se zředí butylamoniumacetatovým tlumivým roztokem o pH 6,5 na 1000,0 ml; tlumivý roztok se připraví rozpuštěním 4 ml *butylaminu R* v 900 ml *vody R* (pH se upraví *kyselinou octovou R* na hodnotu 6,5) a zředěním *vodou R* na 1000,0 ml; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 215 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píky *selegilinu* a *butylparabenu* větší než 3. Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 1,7násobku retenčního času *selegilinu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); a součet ploch těchto píků není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům *chloridů* a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,02 %).

**(S)-Selegilin.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 20,0 mg se rozpustí ve směsi 1 ml *2-propanolu R* a 10  $\mu$ l *butylaminu R* a zředí se mobilní fází na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 8,0 mg *(RS)-selegiliniumchloridu CRL* se rozpustí ve směsi 1 ml *2-propanolu R* a 10  $\mu$ l *butylaminu R* a zředí se mobilní fází na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 0,5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem OD pro chirální separaci R*,
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *2-propanolu R* a *cyklohexanu R* (0,2 + 99,8). Průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se po 20  $\mu$ l každého roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas *(S)-selegilinu* asi 10 min. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla asi 10 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píky *(S)-selegilinu* a *(R)-selegilinu* nejméně 1,5. V případě potřeby se upraví koncentrace *2-propanolu* v mobilní fázi. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího *(S)-selegilinu* větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší při 60 °C a tlaku nepřevyšujícím 0,5 kPa.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

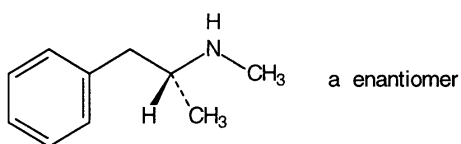
0,180 g se rozpustí v 50 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 22,37 mg  $C_{13}H_{18}ClN$ .

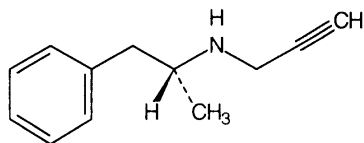
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

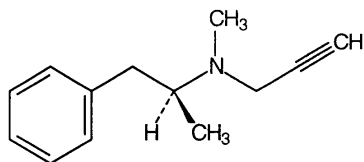
### Nečistoty



- A. N-[(2*RS*)-1-fenyl-2-propyl]-N-methylamin<sup>2)</sup> [(*RS*)-metamfetamin],  
 B. (2*R*)-1-fenyl-2-propylamin<sup>3)</sup> (amfetamin),  
 C. (1*RS*,2*SR*)-2-amino-1-fenyl-1-propanol<sup>4)</sup> (fenylpropanolamin),



- D. N-(2*R*)-(1-fenyl-2-propyl)-2-propin-1-ylamin<sup>5)</sup> (demethylselegilin),



- E. N-[(2*S*)-1-fenyl-2-propyl]-N-methyl-(2-propin-1-yl)amin<sup>6)</sup> [(*S*)-selegilin].

<sup>2)</sup> N-[(2*RS*)-1-fenylpropan-2-yl]-N-methylamin

<sup>3)</sup> (2*R*)-1-fenylpropan-2-ylamin

<sup>4)</sup> (1*RS*,2*SR*)-2-amino-1-fenylpropan-1-ol

<sup>5)</sup> N-[(2*R*)-1-fenylpropan-2-yl]prop-2-yn-1-ylamin

<sup>6)</sup> N-[(2*S*)-1-fenylpropan-2-yl]methylprop-2-yn-1-ylamin

174. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Sesami oleum doplňuje článek Silica ad usum dentalem, který zní:

”

## Silica ad usum dentalem

Oxid křemičitý pro dentální použití



2001

Je to amorfni oxid křemičitý (vysrážený, gel nebo získaný hydrolyzou plamenem). Počítáno na vyžíhanou látku, obsahuje 94,0 % až 100,5 % sloučeniny SiO<sub>2</sub>.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý lehký jemný amorfni prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v minerálních kyselinách, s výjimkou kyseliny fluorovodíkové. Rozpouští se v horkých roztocích alkalických hydroxidů.

### Zkouška totožnosti

Asi 20 mg vyhovuje zkoušce na křemičitany (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** K 2,5 g se přidá 50 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, promíchá se, zahřívá se 30 min na vodní lázni za občasného zamíchání. Odpaří se do sucha. Ke zbytku se přidá směs 8 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 24 ml *vody R*, zahřeje se k varu a zfiltruje se za sníženého tlaku přes filtr ze slinutého skla (16). Zbytek na filtru se promyje horkou směsí 3 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 9 ml *vody R* a malými množstvími *vody R*. Promývací tekutiny a filtrát se spojí a zředí se *vodou R* na 50 ml.

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,2 až 8,9; měří se suspenze připravená smícháním 5 g se směsí 5 ml roztoku *chloridu draselného R* (7,46 g/l) a 90 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*.

**Chloridy.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Síraný.

Nastříkne se 25 µl zkoušeného roztoku a 25 µl porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího chloridu větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,3 %).

**Síraný.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** K 0,625 g se přidá 30 ml *vody R* a 2 h se vaří. Nechá se ochladit, převede se kvantitativně do 50ml odměrné baňky a zředí se *vodou R* na 50,0 ml. 5,0 ml supernatantní tekutiny se zředí *vodou R* na 50,0 ml a zfiltruje se přes membránový filtr (jmenovitá velikost pórů: 0,45 µm).

**Porovnávací roztok.** 0,50 g *síranu sodného bezvodého R* a 0,062 g *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nekovové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné vhodným anexem (30 µm až 50 µm),
- mobilní fáze, která se připraví následujícím způsobem: 0,508 g *uhlíčitanu sodného R* a 0,05 g *hydrogenuhličitanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000 ml; průtoková rychlost je 1,2 ml/min,
- vodivostního detektoru,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se 25 µl zkoušeného roztoku a 25 µl porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy síranu asi 8 min a chloridu asi 4 min.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího síranu větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (4,0 %, počítáno jako síran sodný).

**Železo (2.4.9).** 2 ml roztoku S se zředí vodou R na 40 ml. 10 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na železo (400 µg/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** K 20 ml roztoku S se přidá 50 mg *hydroxylamoniumchloridu R* a 1 ml *amoniaku 26% R*, pH tohoto roztoku se za potenciometrické kontroly upraví *amoniakem zředěným RS2* na hodnotu 3,5 a zředí se vodou R na 25 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (25 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

**Ztráta žiháním.** Nejvýše 25,0 %; 0,200 g se 1 h zahřívá v platinovém kelímku při 100 °C až 105 °C a pak se žihá 2 h při 1000 °C.

### Stanovení obsahu

Ke zbytku získanému ze zkoušky Ztráta žiháním se přidá 0,2 ml *kyseliny sírové R* a množství *lihu 96% R* potřebné k úplnému zvlhčení zbytku. Přidá se 6 ml *kyseliny fluorovodíkové R* a odpaří se do sucha při 95 °C až 105 °C opatrně, aby se zabránilo ztrátám prskáním. Vnitřní stěny kelímku se opláchnou 6 ml *kyseliny fluorovodíkové R* a znovu se odpaří do sucha, žihá se při 900 °C, ochladí se v exsikátoru a zváží se. Rozdíl mezi hmotností konečného zbytku a hmotností zbytku získaného ve zkoušce Ztráta žiháním odpovídá hmotnosti SiO<sub>2</sub> v použitém množství zkoušeného vzorku.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

“

175. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Simeticonum zní:

”

## Simeticonum

Simetikon



corr2001

CAS-8050-81-5

Připravuje se zavedením 4 % až 7 % oxidu křemičitého do poly(dimethylsiloxanu) se stupněm polymerace 20 až 400. Simetikon obsahuje 90,5 % až 99,0 % poly(dimethylsiloxanu) (dimetikonu).

### Výroba

Poly(dimethylsiloxan) se získává hydrolýzou a polykondenzací dichlordimethylsilanu a chlortrimethylsilanu. Na povrchu je oxid křemičitý 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-butanem a s toluenem.

## Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se získá způsobem popsaným ve Stanovení obsahu. Spektrum vykazuje maxima při 2964 cm<sup>-1</sup>, 2905 cm<sup>-1</sup>, 1412 cm<sup>-1</sup>, 1260 cm<sup>-1</sup> a 1020 cm<sup>-1</sup> a kromě toho odpovídá spektru 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 Oxid křemičitý v odstavci Stanovení obsahu, vyhovuje zkoušce na křemičitany (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Kyselce 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 RS1* 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 maximu 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

**Oxid křemičitý.** Nejvýše 7 %; stanoví se termogravimetricky (2.2.34). 20,0 mg se zahřívá na teplotu 800 °C rychlostí 20 °C/min v proudě *dusíku 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.

“

176. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Simeticonum doplňuje článek Simvastatinum, který zní:

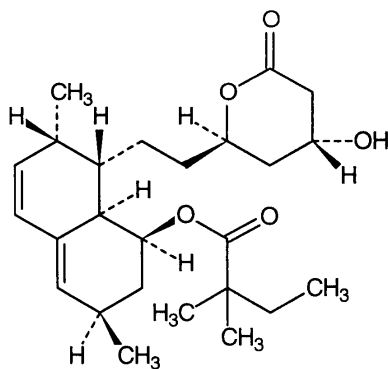
”

## † Simvastatinum

Simvastatin



2001



C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>O<sub>5</sub>

$M_r$  418,57

CAS 79902-63-9

Je to (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl}-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-2,2-dimethylbutanoát<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>25</sub>H<sub>38</sub>O<sub>5</sub>. Může být přidána vhodná antioxidační přísada.

<sup>1)</sup> (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl}-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-2,2-dimethylbutanoát

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu, snadno rozpustný v lihu 96%.

## Zkoušky totožnosti

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *simvastatinu CRL*.

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,200 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací roztok HŽ<sub>7</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +285° až +300°; počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,125 g v *acetonitrilu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 5 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 20 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 5 µl zkoušeného roztoku (a) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající pětinašobku retenčního času *simvastatinu*. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek relativní retenční čas nečistoty A je asi 0,45, *lovastatinu* (nečistota E) a *epilovastatinu* (nečistota F) je asi 0,60, nečistoty G je asi 0,80, nečistoty B je asi 2,38, nečistoty C je asi 2,42 a nečistoty D je asi 3,80 (retenční čas *simvastatinu* je asi 2,6 min). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha píku *lovastatinu* není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %); plocha žádného píku, kromě plochy hlavního píku a píku *lovastatinu*, není větší než 0,8násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,4 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku *lovastatinu*, není větší než dvojnásobek plochy 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) (0,05 %).

**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 v sušárně 3 h pod vysokým vakuem při 60 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se připraví těsně před použitím.*

**Směs rozpouštědel.** Směs objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (1,4 g/l), jehož pH se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 4,0 a *acetonitrilu R* (40 + 60). Zfiltruje se.

**Zkoušený roztok (a).** 75,0 mg se rozpustí ve směsi rozpouštědel a zředí se jí na 50,0 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 40,0 mg se rozpustí ve směsi rozpouštědel a zředí se jí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 mg *simvastatinu CRL* a 1,0 mg *lovastatinu CRL* se rozpustí ve směsi rozpouštědel a zředí se jí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí rozpouštědel na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 40,0 mg *simvastatinu CRL* se rozpustí ve směsi rozpouštědel a zředí se jí na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,033 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R* (3 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 3,0 ml/min:
  - mobilní fáze A - směs objemových dílů *acetonitrilu R* a *kyseliny fosforečné R* 0,1% (V/V) (50 + 50),
  - mobilní fáze B - roztok *kyseliny fosforečné R* 0,1% (V/V) v *acetonitrilu R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 4,5	100	0	izokraticky
4,5 - 4,6	100 → 95	0 → 5	lineární gradient
4,6 - 8,0	95 → 25	5 → 75	lineární gradient
8,0 - 11,5	25	75	izokraticky
1 1,5 - 11,6	25 → 100	75 → 0	lineární gradient
11,6 - 13	100	0	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 238 nm.

Nastříkne se 5  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Zkoušku na čistotu a stanovení obsahu lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu je rozlišení mezi píky simvastatinu a lovastatinu nejméně 5,0. Jsou-li chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, retenční čas lovastatinu je asi 1,6 min a simvastatinu asi 2,6 min. Nastříkne se 5  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 5  $\mu$ l zkoušeného roztoku (b).

Obsah simvastatinu se vypočítá z ploch píků na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (c) a z deklarovaného obsahu *simvastatinu CRL*.

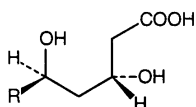
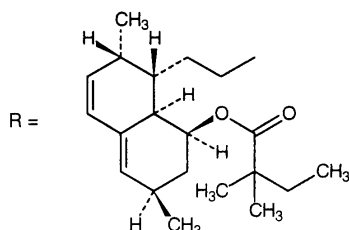
### Uchovávání

Uchovává se pod dusíkem ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

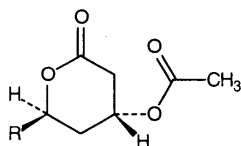
### Označování

V označení na obalu se uvede název a koncentrace přidaného antioxidantu.

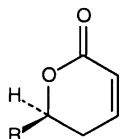
### Nečistoty



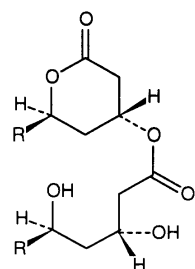
A. kyselina (3*R*,5*R*)-7-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8*aR*)-8-[(2,2-dimethylbutanoyl)oxy]-2,6-dimethyl-1,2,6,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanová (hydroxykyselina),



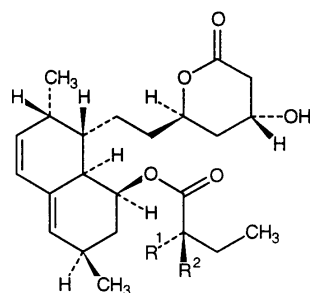
- B. (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-acetyloxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-2,2-dimethylbutanoat<sup>2)</sup> (acetylesther),



- C. (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-3,7-dimethyl-8-[2-[(2*R*)-6-oxo-3,6-dihydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-2,2-dimethylbutanoat<sup>3)</sup> (anhydrosimvastatin),



- D. (2*R*,4*R*)-2-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8*aR*)-8-[(2,2-dimethylbutanoyl)oxy]-2,6-dimethyl-1,2,6,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl]ethyl]-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl-(3*R*,5*R*)-7-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8*aR*)-8-[(2,2-dimethylbutanoyl)oxy]-2,6-dimethyl-1,2,6,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoat<sup>4)</sup> (dimer),



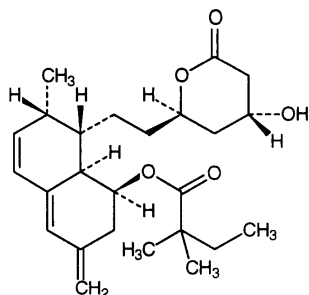
- E.  $R^1 = \text{CH}_3$ ,  $R^2 = \text{H}$ : (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-(2*S*)-2-methylbutanoat<sup>5)</sup> (lovastatin),

<sup>2)</sup> (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-acetyloxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-2,2-dimethylbutanoát

<sup>3)</sup> (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-3,7-dimethyl-8-[2-[(2*R*)-6-oxo-3,6-dihydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-2,2-dimethylbutanoát

<sup>4)</sup> (2*R*,4*R*)-2-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8*aR*)-8-[(2,2-dimethylbutanoyl)oxy]-2,6-dimethyl-1,2,6,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl]ethyl]-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl-(3*R*,5*R*)-7-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8*aR*)-8-[(2,2-dimethylbutanoyl)oxy]-2,6-dimethyl-1,2,6,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoát

F.  $R^1 = H$ ,  $R^2 = CH_3$ : (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl}-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-(2*R*)-2-methylbutanoát<sup>6)</sup> (epilovastatin),



G. (1*S*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl}-7-methyl-3-methylen-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-2,2-dimethylbutanoát<sup>7)</sup>.

“

177. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Sorbitolum, Sorbitolum 70% cristallisable a Sorbitolum 70% non cristallisable znějí:

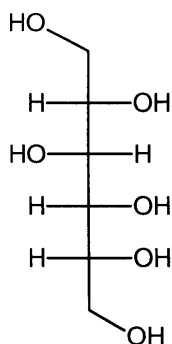
”

## Sorbitolum

Sorbitol



2001

 $C_6H_{14}O_6$  $M_r$  182,17

CAS 50-70-4

<sup>5)</sup> (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl}-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-(2*S*)-2-methylbutanoát

<sup>6)</sup> (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl}-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-(2*R*)-2-methylbutanoát

<sup>7)</sup> (1*S*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl}-7-methyl-3-methylen-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaftalen-1-yl-2,2-dimethylbutanoát

Je to D-glucitol (D-sorbitol). Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_6H_{14}O_6$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Vykazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *sorbitolu CRL*. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka ve vodě R, odpaří se do sucha, a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

B. 0,5 g se zahřívá s 0,5 ml *pyridinu R* a 5 ml *acetanhydridu R* do rozpuštění. Po 10 min se směs vlije do 25 ml *vody R* a nechá se stát 2 h v ledové vodě. Sraženina rekrystalizovaná z malého množství *lihu 96% R* a vysušená ve vakuu taje (2.2.14) při 98 °C až 104 °C.

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

*Zkoušený roztok*. 25 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a)*. 25 mg *sorbitolu CRL* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b)*. 25 mg *mannitolu CRL* a 25 mg *sorbitolu CRL* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese po 2  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směs objemových dílů *vody R*, *ethylacetatu R* a *1-propanolu R* (10 + 20 + 70) po dráze 17 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se *kyselinou 4-aminobenzoovou RS*. Potom se vrstva suší v proudu studeného vzduchu do vymizení pachu acetonu, 15 min se zahřívá při 100 °C a po ochlazení se postříká roztokem *jodistanu sodného R* (2 g/l). Vrstva se znovu suší v proudu studeného vzduchu a 15 min se zahřívá při 100 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, 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. Specifická optická otáčivost (2.2.7). +4,0° až +7,0°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený takto: 5,00 g zkoušené látky a 6,4 g *tetraboritanu sodného R* se rozpustí ve 40 ml *vody R*, nechá se stát 1 h za občasného třepání a zředí se vodou R na 50,0 ml. Je-li třeba, zfiltruje se.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku**. 5 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50 ml. Tento roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Měrná vodivost** (2.2.38). Nejvýše 20  $\mu$ S.cm<sup>-1</sup>. 20,0 g se rozpustí ve vodě *prosté oxidu uhličitého R* připravené z *vody destilované R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. Vodivost tohoto roztoku se měří za mírného míchání magnetickým míchadlem při teplotě 20 °C.

**Redukující cukry**. 5,0 g se rozpustí mírným zahřátím v 6 ml *vody R*, ochladí se a přidá se 20 ml *citronanu měďnatého RS* a několik skleněných kuliček. Směs se během 4 min uvede do varu a vaří se 3 min. Rychle se ochladí a přidá se 100 ml roztoku *kyseliny octové ledové R* 2,4% (V/V) a 20,0 ml *jodu 0,025 mol/l VS*. Za stálého protřepávání se přidá 25 ml směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *vody R* (6 + 94). Po rozpuštění sraženiny se nadbytek jodu titruje *thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* přidaného před koncem titrace jako indikátor. Při titraci se spotřebuje nejméně 12,8 ml *thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS* (0,2 %, počítáno jako glukosový ekvivalent).

**Příbuzné látky**. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným v odstavci Stanovení obsahu. Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku sorbitolu byla nejméně 50 % rozsahu celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času sorbitolu. Na chromatogramu

zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %).

**Olovo** (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce Olovo v cukrech (0,5 µg/g).

**Nikl** (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce Nikl v polyolech (1 µg/g); zkoušená látka se rozpustí ve 150,0 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Mikrobiální znečištění**. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků, celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše  $10^2$  bakterií a nejvýše  $10^2$  hub v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

**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 4 m.j. endotoxinu v gramu pro parenterální přípravky obsahující méně než 100 g/l sorbitolu,
- nejvýše 2,5 m.j. endotoxinu v gramu pro parenterální přípravky obsahující 100 g/l nebo více sorbitolu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok**. 5,0 g se rozpustí ve 20 ml vody R a zředí se jí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (a)**. 0,5 g sorbitolu CRL se rozpustí ve 2 ml vody R a zředí se jí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b)**. 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (c)**. 5,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí vodou R na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (d)**. 0,5 g sorbitolu CRL a 0,5 g mannitolu CRL se rozpustí v 5 ml vody R a zředí se jí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *katexem silně kyselým (vápníková forma)* R (9 µm) a udržované při teplotě  $(85 \pm 1)$  °C,
- mobilní fáze, kterou je odplyněná voda R; průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného při konstantní teplotě.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (d) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času sorbitolu. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas sorbitolu asi 27 min a relativní retenční časy vzhledem k sorbitolu jsou: maltitolu asi 0,6, mannitolu asi 0,8 a iditolu asi 1,1. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píky sorbitolu a mannitolu nejméně 2.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času sorbitolu.

Obsah D-sorbitolu v procentech se vypočítá z ploch píků a z deklarovaného obsahu sorbitolu CRL.

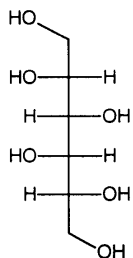
## Označování

V označení na obalu se uvede:

- kde je to vhodné, nejvyšší koncentrace bakteriálních endotoxinů,
- kde je to vhodné, zda je látka vhodná k výrobě parenterálních lékových forem.

## Nečistoty

A. mannitol,



- B. iditol,  
C. maltitol.

## Sorbitolum 70% cristallisabile

Sorbitol 70% krystalizující

*Synonymum.* Sorbitolum liquidum cristallisabile



Je to vodný roztok hydrogenovaného a částečně hydrolyzovaného škrobu. Obsahuje 68,0 % až 72,0 % bezvodé látky. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 92,0 % až 101,0 % D-sorbitolu (D-glucitol, C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>).

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá sirupovitá tekutina. Je mísitelný s vodou.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* A, B a E.

*Alternativní sestava zkoušek:* B, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- B.** Optická otáčivost (2.2.7). +0° až +1,5°. Měří se úhel optické otáčivosti roztoku připraveného takto: K 7,0 g se přidá 40 ml vody R a 6,4 g tetraboritanu sodného R, nechá se stát 1 h za občasného třepání a zředí se vodou R na 50,0 ml. Je-li třeba, zfiltruje se.
- C.** 1 g se vysuší ve vakuu při 80 °C. 0,5 g zbytku se zahřívá s 0,5 ml pyridinu R a 5 ml acetanhydridu R do rozpuštění. Po 10 min se směs vlije do 25 ml vody R a nechá se stát 2 h v ledové vodě. Sraženina rekrystalizovaná z malého množství lihu 96% R a vysušená ve vakuu taje (2.2.14) při 98 °C až 104 °C.
- D.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.  
*Zkoušený roztok.* 70 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml.  
*Porovnávací roztok (a).* 25 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.  
*Porovnávací roztok (b).* 5 mg mannitolu CRL a 50 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.  
Na vrstvu se nanese po 2 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R, ethylacetatu R a 1-propanolu R (10 + 20 + 70) po dráze 17 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se kyselinou 4-aminobenzoovou RS. Potom se vrstva suší v proudu studeného vzduchu do vymizení pachu acetonu, 15 min se zahřívá při 100 °C a po ochlazení se postříká roztokem jodistanu sodného R (2 g/l). Vrstva se znovu suší v proudu studeného vzduchu a 15 min se zahřívá při 100 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.
- E.** Čirá sirupovitá tekutina při teplotě 25 °C.



## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 7,0 g se zředí vodou R na 50 ml. Tento roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Měrná vodivost** (2.2.38). Nejvýše  $10 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Měří se neředěný roztok za mírného míchání magnetickým míchadlem při teplotě 20 °C.

**Redukující cukry.** K 5,0 g se přidá 6 ml vody R, 20 ml citronanu měďnatého RS a několik skleněných kuliček. Směs se během 4 min uvede do varu a vaří se 3 min. Rychle se ochladí a přidá se 100 ml roztoku kyseliny octové ledové R 2,4% (V/V) a 20,0 ml jodu 0,025 mol/l VS. Za stálého protřepávání se přidá 25 ml směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (6 + 94). Po rozpuštění sraženiny se nadbytek jodu titruje thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS přidaného před koncem titrace jako indikátor. Při titraci se spotřebuje nejméně 12,8 ml thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS (0,2 %, počítáno jako glukosový ekvivalent).

**Olovo** (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce Olovo v cukrech (0,5  $\mu\text{g/g}$ ).

**Nikl** (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce Nikl v polyolech (1  $\mu\text{g/g}$ ).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 28,0 % až 32,0 %; stanoví se s 0,1 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 1,00 g se smíchá s 20 ml vody R a zředí se jí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 65,0 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve 2 ml vody R a zředí se jí na 5,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 65 mg mannitolu CRL a 65 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve 2 ml vody R a zředí se jí na 5,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné katexem silně kyselým (vápníková forma) R (9  $\mu\text{m}$ ) a udržované při teplotě  $(85 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ,
- mobilní fáze, kterou je odplyněná voda R; průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného při konstantní teplotě.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času sorbitolu.

Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas sorbitolu asi 27 min a relativní retenční čas mannitolu vzhledem k sorbitolu je asi 0,8. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi píky sorbitolu a mannitolu nejméně 2.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času sorbitolu.

Obsah D-sorbitolu v procentech se vypočítá z ploch píků a z deklarovaného obsahu sorbitolu CRL.

---

## Sorbitolum 70% non cristallisabile

Sorbitol 70% nekystalizující

*Synonymum.* Sorbitolum liquidum non cristallisabile



---

Je to vodný roztok hydrogenovaného a částečně hydrolyzovaného škrobu. Obsahuje 68,0 % až 72,0 % bezvodé látky. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 72,0 % až 92,0 % D-sorbitolu (D-glucitol,  $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$ ).

## Vlastnosti

Čirá bezbarvá sirupovitá tekutina. Je mísitelná s vodou.

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a E.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Hodnotí se chromatogramy získané v odstavci Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- B. Optická otáčivost (2.2.7).  $+1,5^\circ$  až  $+3,5^\circ$ . Měří se úhel optické otáčivosti roztoku připraveného takto: K 7,0 g zkoušené látky se přidá 40 ml vody R a 6,4 g tetraboritanu sodného R, nechá se stát 1 h za občasných protřepání a zředí se vodou R na 50,0 ml. Je-li třeba, zfiltruje se.
- C. 1 g se vysuší ve vakuu při  $80^\circ\text{C}$ . 0,5 g zbytku se zahřívá s 0,5 ml pyridinu R a 5 ml acetanhydridu R do rozpuštění. Po 10 min se směs vlije do 25 ml vody R a nechá se stát 2 h v ledové vodě. Sraženina rekrystalizovaná z malého množství lihu 96% R a vysušená ve vakuu taje (2.2.14) při  $98^\circ\text{C}$  až  $104^\circ\text{C}$ .
- D. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.  
Zkoušený roztok. 70 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml.  
Porovnávací roztok (a). 25 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.  
Porovnávací roztok (b). 5 mg mannitolu CRL a 50 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.  
Na vrstvu se nanese po 2  $\mu\text{l}$  každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R, ethylacetatu R a 1-propa-nolu R (10 + 20 + 70) po dráze 17 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se kyselinou 4-aminobenzoovou RS. Potom se vrstva suší v proudu studeného vzduchu do vymizení pachu acetonu, 15 min se zahřívá při  $100^\circ\text{C}$  a po ochlazení se postříká roztokem jodistanu sodného R (2 g/l). Vrstva se znovu suší v proudu studeného vzduchu a 15 min se zahřívá při  $100^\circ\text{C}$ . Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.
- E. Je to čirá sirupovitá tekutina při teplotě  $25^\circ\text{C}$ .

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 7,0 g se zředí vodou R na 50 ml. Tento roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Měrná vodivost** (2.2.38). Nejvýše  $10\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . Měří se neředěný roztok za mírného míchání magnetickým míchadlem při teplotě  $20^\circ\text{C}$ .

**Redukující cukry.** K 5,0 g se přidá 6 ml vody R, 20 ml citronanu měďnatého RS a několik skleněných kuliček. Směs se během 4 min uvede do varu a vaří se 3 min. Rychle se ochladí a přidá se 100 ml roztoku kyseliny octové ledové R 2,4% (V/V) a 20,0 ml jodu 0,025 mol/l VS. Za stálého protřepávání se přidá 25 ml směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (6 + 94). Po rozpuštění sraženiny se nadbytek jodu titruje thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS přidaného před koncem titrace jako indikátor. Při titraci se spotřebuje nejméně 12,8 ml thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS (0,2 %, počítáno jako glukosový ekvivalent).

**Redukující cukry po hydrolýze.** K 6,0 g se přidá 35 ml vody R, 40 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a několik skleněných kuliček. Vaří se 4 h pod zpětným chladičem. Pak se ochladí a zneutralizuje se hydroxidem sodným zředěným RS na modř bromthymolovou. Ochladí se a zředí se vodou R na 100,0 ml. K 3,0 ml tohoto roztoku se přidá 5 ml vody R, 20 ml citronanu měďnatého RS a několik skleněných kuliček. Směs se během 4 min uvede do varu a vaří se 3 min. Rychle se ochladí a přidá se 100 ml roztoku kyseliny octové ledové R 2,4% (V/V) a 20,0 ml jodu 0,025 mol/l VS. Za stálého protřepávání se přidá 25 ml směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (6 + 94). Po rozpuštění sraženiny se nadbytek jodu titruje thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS přidaného před koncem titrace jako indikátor. Při titraci se spotřebuje nejméně 8,0 ml thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS. (9,3 %, počítáno jako glukosový ekvivalent).

**Olovo** (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce Olovo v cukrech (0,5  $\mu\text{g/g}$ ).

**Nikl** (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce Nikl v polyolech (1  $\mu\text{g/g}$ ).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 28,0 % až 32,0 %; stanoví se s 0,1 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 1,00 g se smíchá s 20 ml vody R a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 55,0 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve 2 ml vody R a zředí se jí na 5,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 55 mg mannitolu CRL a 55 mg sorbitolu CRL se rozpustí ve 2 ml vody R a zředí se jí na 5,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *katexem silně kyselým (vápníková forma) R* (9 μm) a udržované při teplotě (85 ± 1) °C,
- mobilní fáze, kterou je odplyněná voda R; průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného při konstantní teplotě.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času sorbitolu.

Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas sorbitolu asi 27 min a relativní retenční čas mannitolu vzhledem k sorbitolu je asi 0,8. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi píky sorbitolu a mannitolu nejméně 2.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času sorbitolu.

Obsah D-sorbitolu v procentech se vypočítá z ploch píků a z deklarovaného obsahu *sorbitolu CRL*.

“

178. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Spiramycinum zní:

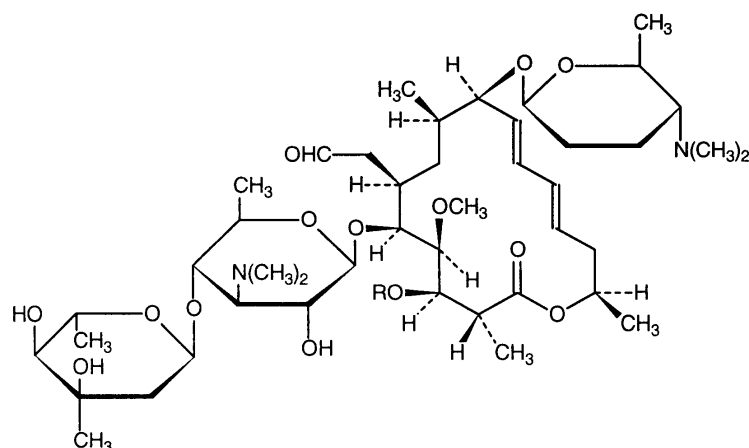
”

## † Spiramycinum

Spiramycin



2001



- spiramycin I R = H  
 spiramycin II R = COCH<sub>3</sub>  
 spiramycin III R = CO—CH<sub>2</sub>—CH<sub>3</sub>

C<sub>43</sub>H<sub>74</sub>N<sub>2</sub>O<sub>14</sub>

CAS 8025-81-8

Je to makrolidové antibiotikum produkované při růstu určitých kmenů *Streptomyces ambofaciens* nebo získané jiným způsobem. Hlavní složkou je (4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,16*R*)-(11*E*,13*E*)-6-[(*O*-2,6-dideoxy-3-*C*-methyl- $\alpha$ -*L*-ribo-hexopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-(3,6-dideoxy-3-dimethylamino- $\beta$ -*D*-glukopyranosyl)oxy]-7-formylmethyl-4-hydroxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-10-[(2,3,4,6-tetradeoxy-4-dimethylamino-*D*-erythro-hexopyranosyl)oxy]oxacyklohexadeca-11,13-dien-2-on<sup>1)</sup> (spiramycin I, *M*, 843,06). Spiramycin II (4-*O*-acetylsiramycin I<sup>2)</sup>) a spiramycin III (4-*O*-propanoylspiramycin I<sup>3)</sup>) jsou též přítomny. Účinnost je nejméně 4100 m.j. v miligramu, počítáno na vysušenou látku.

## Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý slabě hygroskopický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, v lihu 96% a v methanolu.

## Zkoušky totožnosti

A. 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku při 220 nm až 350 nm (2.2.25). Roztok vykazuje absorpční maximum při 232 nm. Specifická absorbance v maximu je asi 340.

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

*Zkoušený roztok.* 40 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 40 mg *spiramycinu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 40 mg *erythromycinu A CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se horní vrstvou směsi objemových dílů 2-*propanolu R*, roztoku *octanu amonného R* (150 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *hydroxidem sodným koncentrovaným RS* na hodnotu 9,6 a *ethylacetatu R* (4 + 8 + 9) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS1* a 5 min se zahřívá při 110 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Jestliže na chromatogramu zkoušeného roztoku je patrná jedna nebo dvě skvrny s hodnotami  $R_F$  slabě vyššími, než má hlavní skvrna, potom tyto skvrny odpovídají polohou a zbarvením vedlejším skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a liší se od skvrn na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

C. 0,5 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny sírové 0,05 mol/l RS* a přidá se 25 ml *vody R*. pH se upraví *hydroxidem sodným 0,1 mol/l RS* na hodnotu 8 a zředí se *vodou R* na 50 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidají 2 ml směsi objemových dílů *vody R* a *kyseliny sírové R* (1 + 2); vzniká hnědé zbarvení.

## Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 8,5 až 10,5; měří se následující roztok: 0,5 g se rozpustí v 5 ml *methanolu R* a zředí se *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 100 ml.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-80^\circ$  až  $-85^\circ$ , počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpouštěním 1,00 g v *kyselině octové zředěné R* 10% (V/V) a zředěním stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Složení.** Nejméně 80,0 % spiramycinu I, nejvýše 5,0 % spiramycinu II a nejvýše 10,0 % spiramycinu III; součet obsahů spiramycinu I, spiramycinu II a spiramycinu III je nejméně 90,0 %; vše počítáno na vysušenou látku. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Příbuzné látky.

Porovnávací roztok (a) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka ploch píku spiramycinu I je nejvýše 1,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok a porovnávací roztok (a). Chromatogramy se zaznamená-

<sup>1)</sup> (4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,16*R*)-(11*E*,13*E*)-6-[(*O*-2,6-dideoxy-3-*C*-methyl- $\alpha$ -*L*-ribo-hexopyranosyl)-(1 $\rightarrow$ 4)-(3,6-dideoxy-3-dimethylamino- $\beta$ -*D*-glukopyranosyl)oxy]-7-formylmethyl-4-hydroxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-10-[(2,3,4,6-tetradeoxy-4-dimethylamino-*D*-erythro-hexopyranosyl)-oxy]oxacyklohexadeca-11,13-dien-2-on

<sup>2)</sup> 4-*O*-acetylsiramycin I

<sup>3)</sup> 4-*O*-propanoylspiramycin I

vají po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času spiramycinu I. Vypočítá se procentuální obsah spiramycinu I, spiramycinu II a spiramycinu III.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se připraví v čas potřeby.*

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů acetonitrilu R a vody R (3 + 7) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25,0 mg spiramycinu CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů acetonitrilu R a vody R (3 + 7) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 2,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů acetonitrilu R a vody R (3 + 7) na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů acetonitrilu R a vody R (3 + 7) na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 5 mg spiramycinu CRL se rozpustí ve 25 ml mobilní fáze, pak se 30 min zahřívá ve vodní lázni při 60 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné sférickým silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii (5 µm), jehož specifický povrch je 350 m<sup>2</sup>/g a velikost pórů je 0,01 µm,
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů acetonitrilu R a tlumivého roztoku o pH 2,2, obsahujícího roztok chloristanu sodného R (9,3 g/l) (30 + 70); průtoková rychlost je 0,8 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 232 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (c) a 20 µl porovnávacího roztoku (d). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je nevýznamný pík s relativním retenčním časem vzhledem k spiramycinu I asi 1,1; na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píkem nečistoty A (eluuje nejdříve) a píkem spiramycinu I (eluuje 13 min až 17 min) nejméně 6,3. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi (s rostoucí koncentrací se zkracuje retenční čas nebo se snižující koncentrací roste retenční čas).

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času spiramycinu I. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě píků odpovídajících spiramycinu I, spiramycinu II a spiramycinu III, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %). Nepřihlíží se k píkům, 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 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 3,5 %; 0,50 g se 6 h suší nad oxidem fosforečným R při 80 °C a při tlaku nepřevyšujícím 670 Pa.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

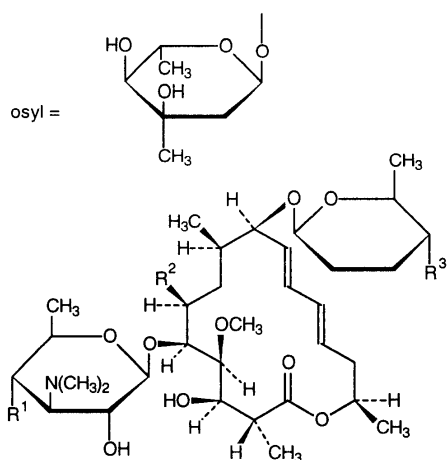
## Stanovení účinnosti

Provede se mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik (2.7.2).

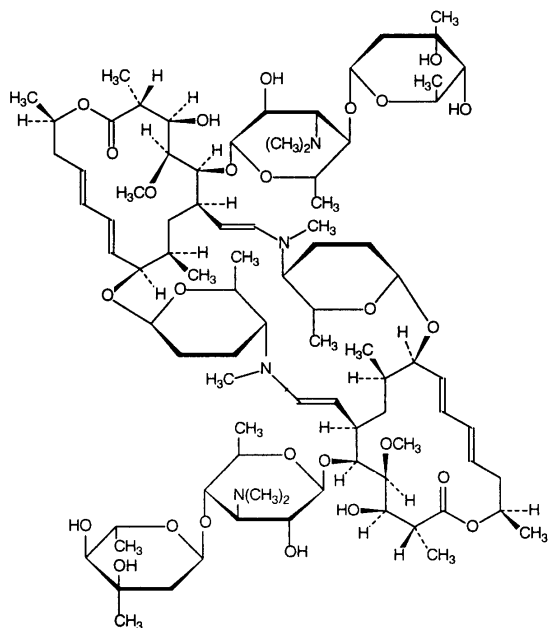
## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.  
Separandum.

## Nečistoty

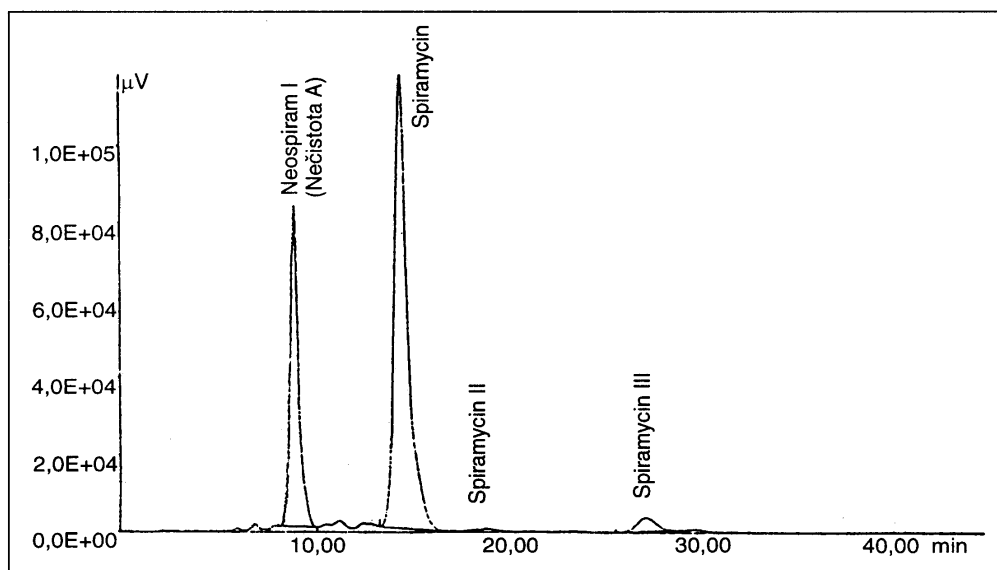


- A.  $R^1 = \text{OH}$ ,  $R^2 = \text{CH}_2\text{-CHO}$ ,  $R^3 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ : neospiramycin I,  
 B.  $R^1 = \text{osyl}$ ,  $R^2 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$ ,  $R^3 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  
 C.  $R^1 = \text{osyl}$ ,  $R^2 = \text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CHO}$ ,  $R^3 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  
 D.  $R^1 = \text{osyl}$ ,  $R^2 = \text{CH}_2\text{-CHO}$ ,  $R^3 = \text{OH}$ ,  
 E.  $R^1 = \text{osyl}$ ,  $R^2 = \text{CH}_2\text{-CH}_3$ ,  $R^3 = \text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,



- F. dimer spiramycinu.

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a není součástí požadavků článku.



Obr. 1 Vzorový chromatogram spiramycinu

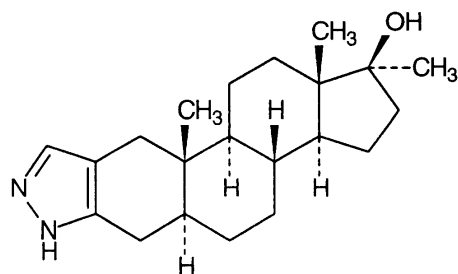
“

179. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Stannosi chloridum dihydricum doplňuje článek Stanazololum, který zní:

”

## † Stanazololum

Stanozolol



$C_{21}H_{32}N_2O$

$M_r$  328,48

CAS 10418-03-8

Je to 17-methyl-2 $\prime$ H-5 $\alpha$ -androst-2-eno[3,2-c]pyrazol-17 $\beta$ -ol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{21}H_{32}N_2O$ .

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, hygroskopický. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dimethylformamidu, těžce rozpustný v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v dichlormethanu.

Vykazuje polymorfismus.

## Zkoušky totožnosti

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) odpovídá spektru *stanazololu CRL*. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v co nejmenším množství dichlormethanu, odpaří se do sucha při pokojové teplotě v proudě vzduchu a se získanými zbytky se znovu zaznamenají spektra.
- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) polohou, zbarvením a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

## Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +34° až +40°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,10 g v *chloroformu R* a zředěním stejným rozpouštědlem 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 (a).** 0,10 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) na 10 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) na 200 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5 mg *stanazololu nečistoty A CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 50 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 10 mg *stanazololu 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 nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (10 + 90) po dráze odpovídající dvěma třetinám výšky vrstvy. Vrstva se nechá usušit na vzduchu, postříká se *kyselinou sírovou v lihu RS*, 15 min se zahřívá při 105 °C a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není žádná vedlejší skvrna intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky sušením při 100 °C a tlaku nepřevyšujícím 0,7 kPa.

## Stanovení obsahu

0,250 mg 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).

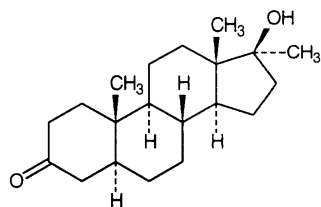
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 32,85 mg  $C_{21}H_{32}N_2O$ .

## Uchovávání

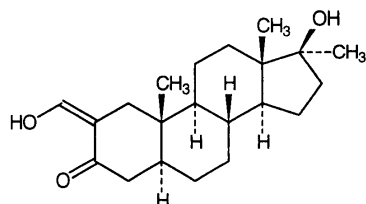
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.



## Nečistoty



A. 17β-hydroxy-17-methyl-5α-androstan-3-on (mestanolon),



B. 17β-hydroxy-2-(hydroxymethylen)-17-methyl-5α-androstan-3-on (oxymetholon).

“

180. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Sufentanili dihydrogenocitras doplňuje článek Sufentanilum, který zní:

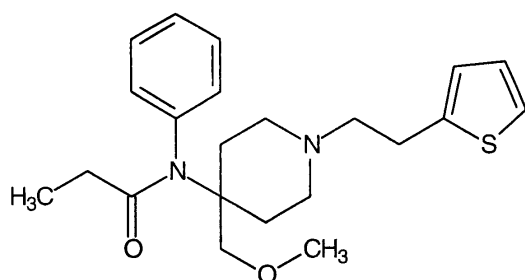
”

## §§ Sufentanilum

Sufentanil



2001


 $C_{22}H_{30}N_2O_2S$ 
 $M_r$  386,55

CAS 56030-54-7

Je to N-fenyl-N-{4-(methoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}propanamid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{22}H_{30}N_2O_2S$ .

<sup>1)</sup> N-fenyl-N-{4-(methoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}propanamid

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v methanolu. Taje při asi 98 °C.

## Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) odpovídá referenčnímu spektru Ph. Eur. sufentanilu.

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 0,100 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** Pro přípravu *in situ* degradační sloučeniny (sufentanil nečistota E) se rozpustí 10 mg zkoušené látky v 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 4 h se zahřívá na vodní lázni pod zpětným chladičem, přidá se 10,0 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a odpaří se do sucha na vodní lázni. Po ochlazení se k odparku přidá 10 ml *methanolu R* a zfiltruje se.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min:
  - *mobilní fáze A* - roztok *uhličitanu amonného R* (5 g/l) ve směsi objemových dílů *tetrahydrofuranu R* a *vody R* (10 + 90),
  - *mobilní fáze B* - *acetonitril R*,
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 15	90 → 40	10 → 60	lineární gradient
15 - 20	40	60	izokraticky
20 - 21	40 → 90	60 → 10	návrat na původní podmínky
21 - 25	90	10	nové ustavení rovnováhy

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Kolona se promývá do ustavení rovnováhy nejméně 30 min *acetonitrilem R* a pak nejméně 5 min mobilní fází o počátečním složení.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 10 μl byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: nečistoty E asi 12 min a sufentanilu asi 13 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími sufentanilu a nečistoty E je nejméně 4,0. Pokud je to nutné, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo časový program lineárního gradientu.

Nastříkne se 10 μl *methanolu R* jako kontrolní roztok, 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům získaným na chromatogramu kontrolního roztoku a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší ve vakuové sušárně 2 h při 60 °C.

### Stanovení obsahu

0,300 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 38,66 mg  $C_{22}H_{30}N_2O_2S$ .

### Uchovávání

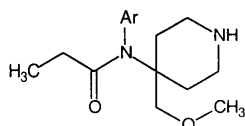
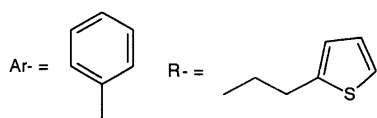
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Omamná látka.

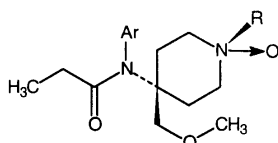
### Nečistoty

*Kvalifikované nečistoty: D, F, H.*

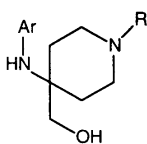
*Jiné detegovatelné nečistoty: A, B, C, E, G, I.*



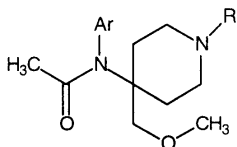
A. *N*-fenyl-*N*-[4-(methoxymethyl)piperidin-4-yl]propanamid<sup>2)</sup>,



B. *cis*-4-(*N*-fenylpropanoylamino)-4-(methoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-1-oxid<sup>3)</sup>,



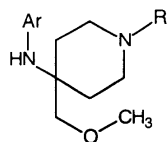
C. {4-(fenylamino)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}methanol,



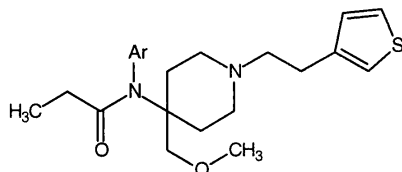
D. *N*-fenyl-*N*-{4-(methoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}acetamid<sup>4)</sup>,

<sup>2)</sup> *N*-fenyl-*N*-[4-(methoxymethyl)piperidin-4-yl]propanamid

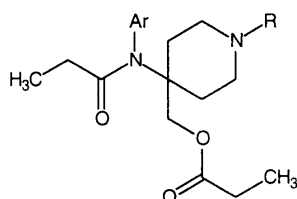
<sup>3)</sup> *cis*-4-(*N*-fenylpropanoylamino)-4-(methoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-1-oxid



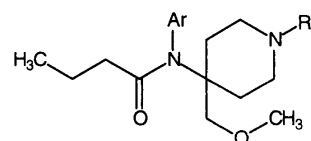
E. *N*-fenylo-4-(metoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl)amin,



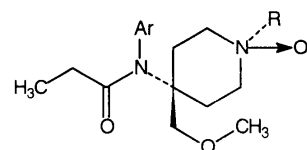
F. *N*-fenylo-*N*-{4-(metoxymethyl)-1-[2-(3-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}propanamid<sup>5)</sup>,



G. {4-(*N*-fenylopropanoylamino)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}methyl-propanoát<sup>6)</sup>,



H. *N*-fenylo-*N*-{4-(metoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}butanamid<sup>7)</sup>,



I. *trans*-4-(*N*-fenylopropanoylamino)-4-(metoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-1-oxid<sup>8)</sup>.

“

<sup>4)</sup> *N*-fenylo-*N*-{4-(metoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}acetamid

<sup>5)</sup> *N*-fenylo-*N*-{4-(metoxymethyl)-1-[2-(3-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}propanamid

<sup>6)</sup> {4-(*N*-fenylopropanoylamino)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}methyl-propanoát

<sup>7)</sup> *N*-fenylo-*N*-{4-(metoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-4-yl}butanamid

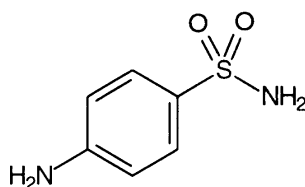
<sup>8)</sup> *trans*-4-(*N*-fenylopropanoylamino)-4-(metoxymethyl)-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-1-oxid

181. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Sulfamethoxypyridazinum doplňuje článek Sulfanilamidum, který zní:

”

## † Sulfanilamidum

Sulfanilamid

 $C_6H_8N_2O_2S$  $M_r$  172,21

CAS 63-74-1

Je to 4-aminobenzensulfonamid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_6H_8N_2O_2S$ .

### Vlastnosti

Bílé nebo nažloutlé bílé krystaly nebo jemný prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, mírně rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v dichlormethanu. Rozpouští se v roztocích alkalických hydroxidů a ve zředěných minerálních kyselinách.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 164,5 °C až 166,0 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *sulfanilamidu CRL*.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce *Příbuzné látky*, viz *Zkoušky na čistotu*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) 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).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** Ke 2,5 g se přidá 50 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. Zahřívá se asi 5 min při asi 70 °C, potom se asi 15 min chladí v ledové lázni a zfiltruje se.

**Kysele 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 F<sub>254</sub> pro TLC R*.

**Zkoušený roztok (a).** 20 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku 26% R* a *methanolu R* (2 + 48) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 0,10 g se rozpustí v 0,5 ml *amoniaku 26% R* a zředí se *methanolem R* na 5 ml. Není-li roztok úplně čirý, mírně se zahřívá do úplného rozpuštění.

**Porovnávací roztok (a).** 20 mg se *sulfanilamidu CRL* se rozpustí ve 3 ml směsi objemových dílů *amoniaku 26% R* a *methanolu R* (2 + 48) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,25 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *amoniaku 26% R* a *methanolu R* (2 + 48) na 50 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 20 mg zkoušené látky a 20 mg *sulfamerazinu CRL* se rozpustí ve 3 ml směsi objemových dílů *amoniaku 26% R* a *methanolu R* (2 + 48) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Na vrstvu se nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 17,5% R*, *vody R*, *nitromethanu R* a *dioxanu R* (3 + 5 + 40 + 50) po dráze odpovídající dvěma třetinám výšky desky. Vrstva se usuší při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) 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.

**Těžké kovy (2.4.8).** 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok *olova* (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

Provede se zkouška Dusík v primárních aromatických aminech (2.5.8) za použití 0,140 g a za elektrometrické indikace bodu ekvivalence.

1 ml *dusitanu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 17,22 mg  $C_6H_8N_2O_2S$ .

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

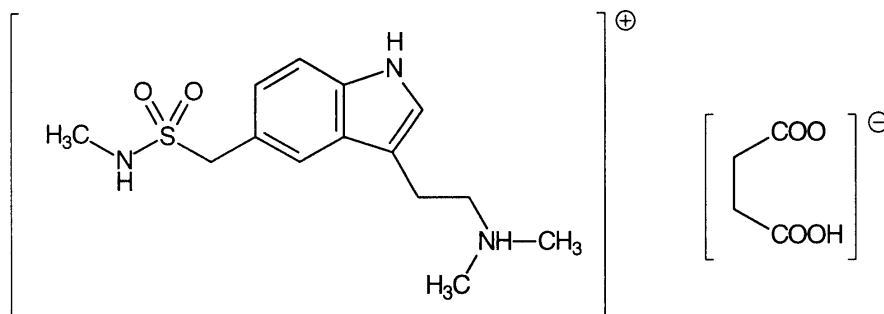
182. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Sulpiridum doplňuje článek Sumatriptani hydrogenosuccinas, který zní:

”

## † Sumatriptani hydrogenosuccinas

Sumatriptaniumhydrogensukcinat

*Synonymum.* Sumatriptani succinas



$C_{18}H_{27}N_3O_6S$

$M_r$  413,49

CAS 103628-48-4

Je to *N,N*-dimethyl-2- $\{5-[[(\text{methylamino})\text{sulfonyl}]\text{methyl}]-1H\text{-indol-3-yl}\}$ ethylamonium-hydrogen-butandioat<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 97,5 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{18}H_{27}N_3O_6S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu a prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *sumatriptaniumhydrogensukcinatu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého *R* a zředí se jí na 25,0 ml.

**Absorbance** (2.2.25). Absorbance roztoku *S* měřená při 440 nm není větší než 0,10.

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,5 až 5,3; 2,5 ml roztoku *S* se zředí vodou prostou oxidu uhličitého *R* na 10 ml.

<sup>1)</sup> *N,N*-dimethyl-2-(5- $\{[(\text{methylamino})\text{sulfonyl}]\text{methyl}\}$ -1*H*-indol-3-yl)ethylamonium-hydrogen-butandioát

## Příbuzné látky

### A. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 30,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 2 mg *sumatriptanu nečistoty A CRL* se rozpustí v mobilní fázi, přidá se 1 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10 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).* 3 mg *sumatriptanu pro test způsobilosti CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 1 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *octanu amonného R* (771 g/l) a *methanolu R* (10 + 90); průtoková rychlost je 2,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 282 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 20 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (c). Výsledný chromatogram odpovídá chromatogramu dodanému pro *sumatriptan pro test způsobilosti CRL*.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu je rozlišení mezi píky *sumatriptanu* (retenční čas je asi 3 min) a *nečistoty A* (relativní retenční čas je asi 2,5) nejméně 1,5.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající pětinašobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího *nečistotě A* větší než šestinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,6 %); plocha píku odpovídajícího *nečistotě H* (relativní retenční čas je asi 3,5) není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %); plocha žádného dalšího píku, kromě hlavního píku a píků odpovídajících *nečistotám A* a *H*, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %). Součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než devítinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,9 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %).

### B. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem, který je popsán v odstavci Stanovení obsahu.

*Zkoušený roztok.* 30,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 2 mg *sumatriptanu nečistoty C CRL* se rozpustí v mobilní fázi, přidá se 1 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10 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).* 30 mg *sumatriptanu směsi nečistot CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí 10 ml.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Stanoví se retenční čas *sumatriptanu*.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu je rozlišení mezi píky *sumatriptanu* a *nečistoty C* nejméně 1,5.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (c). Na chromatogramu je pět hlavních píků. Plocha píku *nečistoty E* je asi dvojnásobek plochy píku *nečistoty B*, *nečistoty C* nebo *nečistoty D* (retenční čas *nečistoty E* může velmi záviset na použité koloně). Relativní retenční časy, vzhledem k *sumatriptanu*, jsou asi 0,6 pro *nečistotu B*, 0,9 pro *nečistotu C* a 0,3 pro *nečistotu D*. Stanoví se retenční časy *nečistoty E*, *nečistoty B*, *nečistoty C* a *nečistoty D*.

Nastříkne se 10 µl zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího *nečistotě B*, *nečistotě C* nebo *nečistotě D* větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); plocha píku odpovídajícího *nečistotě E* a plocha žádného dalšího píku, kromě hlavního píku a píků odpovídajících *nečistotě B*, *nečistotě C* nebo *nečistotě D*, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než šestinašobek plochy



hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,6 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %).

**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

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Roztok A**. 2,925 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí v 600 ml *vody R*, pH se upraví *hydroxidem sodným koncentrovaným RS* na hodnotu 6,5, zředí se *vodou R* na 750 ml, přidá se 250 ml *acetonitrilu R* a zamíchá se.

**Zkoušený roztok**. 15,0 mg se rozpustí v roztoku A a zředí se jím na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (a)**. 15,0 mg *sumatriptaniumhydrogensukcinatu CRL* se rozpustí v roztoku A a zředí se jím na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b)**. 3 mg *sumatriptanu nečistoty C CRL* se rozpustí v roztoku A, přidá se 40 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se roztokem A na 100 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 objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku připraveného takto: 0,970 g *dibutylaminu R*, 0,735 g *kyseliny fosforečné R* a 2,93 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí v 750 ml *vody R*, pH se upraví *hydroxidem sodným koncentrovaným RS* na hodnotu 6,5 a zředí se *vodou R* na 1000 ml (25 + 75); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 282 nm.

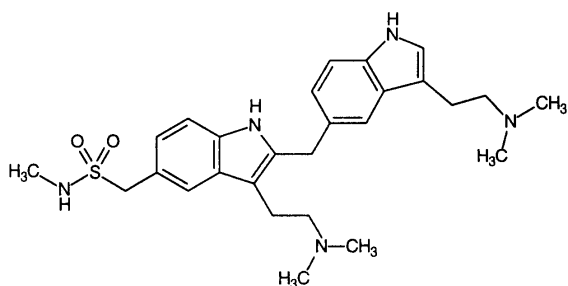
Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení na chromatogramu mezi píky sumatriptanu a nečistoty C nejméně 1,5. Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku (a) a vypočítá se procentuální obsah sumatriptaniumhydrogensukcinatu.

### Uchovávání

Chráněn před světlem.

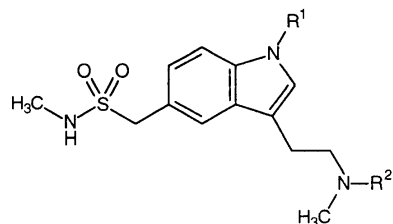
Separandum.

### Nečistoty



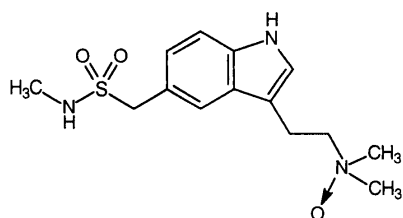
A. {3-[2-(dimethylamino)ethyl]-2-[[3-[2-(dimethylamino)ethyl]-1*H*-indol-5-yl]methyl]-1*H*-indol-5-yl]-*N*-methylmethansulfonamid<sup>2)</sup>,

<sup>2)</sup> {3-[2-(dimethylamino)ethyl]-2-({3-[2-(dimethylamino)ethyl]-1*H*-indol-5-yl]methyl)-1*H*-indol-5-yl]-*N*-methylmethansulfonamid

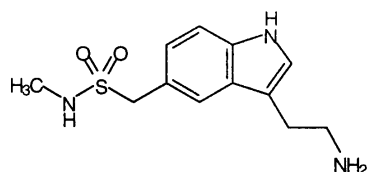


B.  $R^1 = R^2 = H$ : {3-[2-(methylamino)ethyl]-1*H*-indol-5-yl]-*N*-methylmethansulfonamid<sup>3)</sup>,

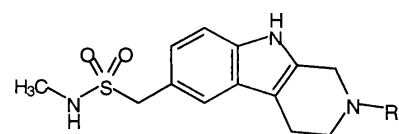
C.  $R^1 = CH_2-OH$ ,  $R^2 = CH_3$ : {3-[2-(dimethylamino)ethyl]-1-(hydroxymethyl)-1*H*-indol-5-yl]-*N*-methylmethansulfonamid<sup>4)</sup>,



D. *N,N*-dimethyl-*N*-{2-[5-[[methylamino)sulfonyl]methyl]-1*H*-indol-3-yl]ethyl}aminoxid<sup>5)</sup>,



E. [3-(2-aminoethyl)-1*H*-indol-5-yl]-*N*-methylmethansulfonamid<sup>6)</sup>,



F.  $R = H$ : *N*-methyl(2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-6-yl)methansulfonamid<sup>7)</sup>,

G.  $R = CH_3$ : *N*-methyl(2-methyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-6-yl)methansulfonamid<sup>8)</sup>,

<sup>3)</sup> {3-[2-(methylamino)ethyl]-1*H*-indol-5-yl]-*N*-methylmethansulfonamid

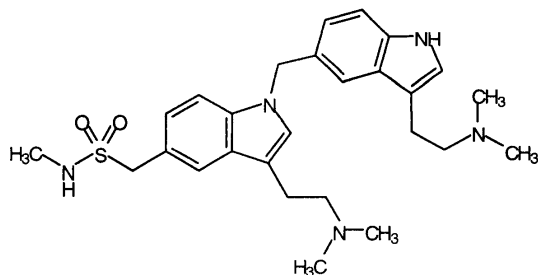
<sup>4)</sup> {3-[2-(dimethylamino)ethyl]-1-(hydroxymethyl)-1*H*-indol-5-yl]-*N*-methylmethansulfonamid

<sup>5)</sup> *N,N*-dimethyl-*N*-{2-[5-[[methylamino)sulfonyl]methyl]-1*H*-indol-3-yl]ethyl}aminoxid

<sup>6)</sup> [3-(2-aminoethyl)-1*H*-indol-5-yl]-*N*-methylmethansulfonamid

<sup>7)</sup> *N*-methyl(2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-6-yl)methansulfonamid

<sup>8)</sup> *N*-methyl(2-methyl-2,3,4,9-tetrahydro-1*H*-pyrido[3,4-*b*]indol-6-yl)methansulfonamid



H. {3-[2-(dimethylamino)ethyl]-1-[[3-[2-(dimethylamino)ethyl]-1*H*-indol-5-yl]methyl]-1*H*-indol-5-yl]-*N*-methylmethansulfonamid<sup>9)</sup>.

“

183. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Suxamethonii chloridum zní:

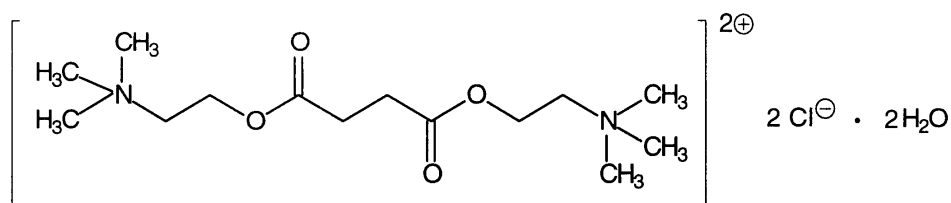
”

## † Suxamethonii chloridum dihydricum

Dihydrát suxamethoniumchloridu

*Synonyma.* Suxamethonii chloridum, suxamethoniumchlorid

2001



$C_{14}H_{30}Cl_2N_2O_4 \cdot 2H_2O$

$M_r$  397,34  
 $M_r$  bezvodého 361,31

CAS 6101-15-1

Je to dihydrát  $N,N'$ -[(2,2'-sukcinyldioxy)diethyl]bis(trimethylamonium)dichloridu<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{14}H_{30}Cl_2N_2O_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%. Taje při asi 160 °C, stanoví se bez předchozího sušení.

<sup>9)</sup> {3-[2-(dimethylamino)ethyl]-1-({3-[2-(dimethylamino)ethyl]-1*H*-indol-5-yl]methyl)-1*H*-indol-5-yl]-*N*-methylmethansulfonamid

<sup>1)</sup>  $N,N'$ -[(2,2'-sukcinyldioxy)diethyl]bis(trimethylamonium)-dichloridu

## 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 odpovídá spektru tablety hydrátu *suxamethoniumchloridu CRL*.
- B.** K 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 9 ml *vody R*, 10 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 30 ml *Reineckovy soli RS*; vznikne růžová sraženina. Nechá se 30 min stát, zfiltruje se, promyje *vodou R*, *lihem 96% R*, potom *etherem R* a vysuší se při 80 °C. Teplota tání (2.2.14) sraženiny je 180 °C až 185 °C.
- C.** Asi 25 mg se rozpustí v 1 ml *vody R*, přidá se 0,1 ml roztoku *chloridu kobaltnatého R* (10 g/l) a 0,1 ml *hexakyanoželeznatému draselného RS*; vznikne zelené zbarvení.
- D.** Asi 20 mg 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 20 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1). 4 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 10 ml. Roztok je bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,0 až 5,0; měří se roztok připravený zředěním 1 ml roztoku S *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 10 ml.

**Choliniumchlorid.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *celulosity pro chromatografii R1*.

**Zkoušený roztok.** 0,4 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

**Porovnávací roztok.** 0,4 g dihydrátu *suxamethoniumchloridu CRL* a 2 mg *choliniumchloridu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se po dráze 15 cm horní vrstvou mobilní fáze připravené takto: směs objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *vody R* a *1-butanolu R* (10 + 40 + 50) se 10 min třepe a potom se nechá stát. Vrstva se vysuší na vzduchu a postříká se *jodobismutitanem draselným RS*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna odpovídající choliniumchloridu na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 8,0 % až 10,0 %; stanoví se s 0,30 g zkoušené látky.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí v 50 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 18,07 mg  $C_{14}H_{30}Cl_2N_2O_4$ .

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

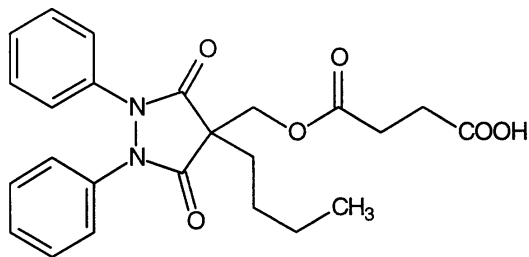
Separandum.

184. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Suxamethonii jodidum doplňuje článek Suxibuzonum, který zní:

”

## † Suxibuzonum

Suxibuzon

 $C_{24}H_{26}N_2O_6$  $M_r$  438,48

CAS 27470-51-5

Je to kyselina 4-[(4-butyl-1,2-diphenyl-3,5-dioxopyrazolidin-4-yl)methoxy]-4-oxobutanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{24}H_{26}N_2O_6$ .

### Vlastnosti

*Vzhled.* Bílý krystalický prášek.

*Rozpusťnost.* Prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, dobře rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v cyklohexanu.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

Porovnání se *suxibuzonem CRL*.

### Zkoušky na čistotu

*Vzhled roztoku.* Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*). 1 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 20 ml.

*Příbuzné látky.* Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,10 g se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 2,8 mg *suxibuzonu nečistoty B CRL* a 2,8 mg *suxibuzonu nečistoty C CRL* se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *acetonitrilem R* na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 4 mg *fenylbutazonu CRL* (nečistota A *suxibuzonu*) se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *acetonitrilem R* na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 10 mg *fenylbutazonu CRL* se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 25,0 ml. Směs 10,0 ml tohoto roztoku a 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *acetonitrilem R* na 25,0 ml.

Kolona:

- *rozměry:* délka (*l*) 0,125 m, vnitřní průměr (*d*) 4,0 mm;

- *stacionární fáze:* silikagel oktadecylsilanizovaný pro chromatografii *R* (5 μm).

*Mobilní fáze.* Směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku připraveného takto: 6,7 g *kyseliny citronové R* a 2,4 g *trometamolu R* se rozpustí v 950 ml *vody R*, pH se upraví *kyselinou citronovou R* na hodnotu 3,0 a zředí se *vodou R* na 1000 ml (44 + 56).

Průtoková rychlost. 1 ml/min.

Detekce. Spektrofotometr, 250 nm.

Nástřik. 10 µl.

Relativní retenční časy vztahované na suxibuzon (retenční čas je asi 7 min):

- nečistota C: 0,7;
- nečistota A: 1,4;
- nečistota B: 3,3.

Test způsobilosti systému:

- rozlišení: nejméně 2,0 mezi píky suxibuzonu a nečistoty A na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Limity:

- nečistota A: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %);
- nečistota B: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,7 %);
- nečistota C: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,7 %);
- jakákoliv další nečistota: nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %);
- celkový obsah všech nečistot: nejvýše 10násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %);
- zanedbatelnost píků: 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,07 %).

**Těžké kovy** (2.4.8). Nejvýše 10 µg/g. 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C. Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší ve vakuové sušárně při 60 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

0,400 g se rozpustí v předem neutralizovaném *ethanolu R*, zředí se jím na 10 ml 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 43,85 mg C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.

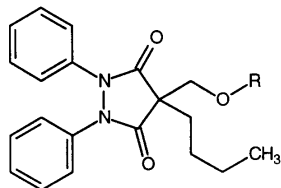
Separandum.

## Nečistoty

Kvalifikované nečistoty: B, C.

Jiné detegovatelné nečistoty: A.

A. fenylbutazon,



B. R = CO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CO-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: (4-butyl-1,2-difenyl-3,5-dioxopyrazolidin-4-yl)methyl-ethyl-butandioát<sup>1)</sup>,

C. R = H: 4-butyl-1,2-difenyl-4-(hydroxymethyl)-1,2-dihydro-4H-pyrazol-3,5-dion.

“

<sup>1)</sup> (4-butyl-1,2-difenyl-3,5-dioxopyrazolidin-4-yl)methyl-ethyl-butandioát

185. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Tamoxifeni dihydrogenocitras doplňuje článek Tanacetii parthenii herba, který zní:

”

## † Tanacetii parthenii herba

Řimbabová nať

*Synonymum.* Herba tanacetii parthenii



2001

Je to celá nebo řezaná usušená nať druhu *Tanacetum parthenium* (L.) SCHULTZ BIP. Obsahuje nejméně 0,20 % parthenolidu ( $C_{15}H_{20}O_3$ ;  $M_r$  248,3), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Droga má charakteristický pach po kafru.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A.** Listnatá, více nebo méně větvená lodyha o průměru až 5 mm, téměř čtyřhranná, podélně rýhovaná, slabě ochmýřená. Listy v obrysu vejčité 2 cm až 5 cm, někdy až 10 cm dlouhé, žlutozelené, řapíkaté a střídavé. Jsou peřenosečné až lichožepeřené, s 1-5 jařmy peřenoklanných, hrubě vroubkovaných, na konci tupých úkrojků. List na obou stranách pyřitý až olysalý, na spodní straně vyniká střední žilka. V droze mohou být přítomny dlouze stopkaté úbory o průměru 12 mm až 22 mm, které jsou uspořádány v pěti až třicetikvětém chocholíku. Polokulovitý zákrov o průměru 6 mm až 8 mm je složen z četných překrývajících se listenů, které jsou poměrně úzké, tupé, suchomázdřitě lemované. Terčové květy jsou žluté, oboupohlavné, pětičetné, trubkovité. Nitky tyčinek jsou volné, prašníky srůstají v trubku, kterou proniká čnělka s dvojklnnou bliznou. Obvodové květy jsou bílé, samičí, s třícípým 2 mm až 7 mm dlouhým jazykem. Plod je žláznatá nažka 1,2 mm až 1,5 mm dlouhá, v době zralosti hnědá s pěti až deseti bílými podlouhlými žebry a s krátkou vroubkovanou blanitou korunkou.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je žlutozelený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: četné velké mnohobuněčné jednořadé krycí chlupy tvořené kosočtverečnou bazální buňkou, třemi až pěti menšími ztlustlými buňkami s pravouhlými stěnami a velmi dlouhou plochou štíhlou koncovou buňkou, často ohnutou do pravého úhlu k ose bazální buňky; žláznaté chlupy s krátkou dvouřadou dvou-buněčnou až čtyřbuněčnou nohou a dvouřadou čtyřbuněčnou hlavičkou, překrytou měchýřovitou kutikulou; pokožka z buněk se stěnami silně vlnitě zprohýbanými, krytými zvrásněnou kutikulou a s anomocytickými průduchy; četné šroubovitě a kruhovitě ztlustlé cévy; mnohovrstevný parenchym a kolenchym. Mohou být přítomny: úlomky terčových květů obsahující světle žlutou amorfni hmotu a malé růžicovité krystaly šťavelanu vápenatého; kulovitá pylová zrna o průměru asi 25  $\mu$ m se třemi klíčovými póry a ostnitou exinou.
- C.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.  
*Zkoušený roztok.* 1 g práškové drogy (355) se smíchá s 20 ml *methanolu R* a zahřívá se 15 min na vodní lázni při 60 °C. Po ochlazení se zfiltruje. Filtrát se odpaří za sníženého tlaku do sucha a zbytek se rozpustí ve 2 ml *methanolu R*.  
*Porovnávací roztok.* 5 mg *parthenolidu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.  
Na vrstvu se nanese do pruhů po 20  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a *toluenu R* (15 + 85) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *vanilinu R* (5 g/l) ve směsi objemových dílů *ethanolu R* a *kyseliny sírové R* (20 + 80). Po 5 min se pozoruje v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je ve střední části modrá hlavní skvrna odpovídající polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku a těsně pod hlavní skvrnou na chromatogramu zkoušeného roztoku může být

další modrá skvrna. V dolní třetině chromatogramu jsou jedna nebo dvě modré skvrny. Mohou být přítomny další fialové skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi (2.8.2).** Nejvýše 10,0 % stonků o průměru větším než 5 mm a nejvýše 2,0 % ostatních cizích příměsí.

**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 kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** Asi 50 g drogy se upráškuje (355). Po homogenizaci se 1,00 g práškové drogy v baňce smíchá se 40 ml *methanolu R* a zahřívá se 10 min ve vodní lázni při 60 °C. Po ochlazení se zfiltruje. Filtr se promyje 15 ml *methanolu R*. Zbytek drogy se smíchá se 40 ml *methanolu R* a postup se opakuje ještě jednou. Filtráty a promývací tekutiny se spojí a odpaří se za sníženého tlaku do sucha. Zbytek se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml a zfiltruje se (0,45 µm).

**Porovnávací roztok.** 5,0 mg *parthenolidu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku 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 pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (40 + 60). Průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se po 20 µl každého roztoku. Retenční čas *parthenolidu* je asi 11,5 min.

Obsah *parthenolidu* (C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>) v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A_1 \cdot m_2 \cdot 40}{A_2 \cdot m_1},$$

v němž značí:

A<sub>1</sub> - plochu píku odpovídající hlavní složce na chromatogramu zkoušeného roztoku,

A<sub>2</sub> - plochu píku odpovídající hlavní složce na chromatogramu porovnávacího roztoku,

m<sub>1</sub> - navážku drogy ve zkoušeném roztoku v gramech,

m<sub>2</sub> - navážku *parthenolidu* v porovnávacím roztoku v gramech.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

Separandum.



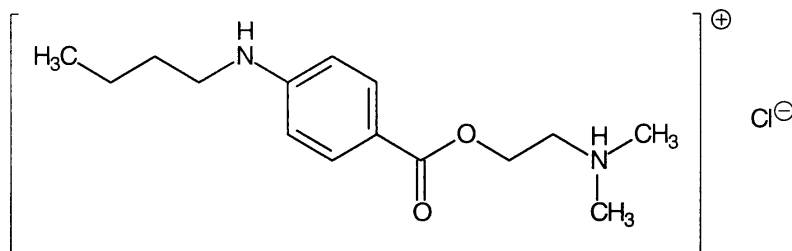
186. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Tetracaini hydrochloridum a Tetracosactidum znějí:

”

## † Tetracaini hydrochloridum

Tetrakainiumchlorid

*Synonymum.* Tetracainium chloratum



$C_{15}H_{25}ClN_2O_2$

$M_r$  300,83

CAS 136-47-0

Je to [2-(4-butylaminobenzoyl)oxyethyl]dimethylamoniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{15}H_{25}ClN_2O_2$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický slabě hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Taje při asi 148 °C nebo v případě dalších dvou krystalických forem při asi 134 °C a 139 °C. Směsi těchto forem tají při 134 °C až 147 °C.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* A, B a D.

*Alternativní sestava zkoušek:* B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *tetrakainiumchloridu CRL*.
- B. K 10,0 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml *thiokyanatanu amonného RS*. Vzniká bílá krystalická sraženina, která se rekrystalizuje z *vody R* a suší se 2 h při 80 °C; teplota tání (2.2.14) je asi 131 °C.
- C. K asi 5 mg se přidá 0,5 ml *kyseliny dusičné dýmavé R*. Odpaří se do sucha na vodní lázni, nechá se ochladit, zbytek se rozpustí v 5 ml *acetonu R* a přidá se 1 ml *hydroxidu draselného v lihu RS*; vzniká fialové zbarvení.
- D. Roztok S vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 5,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50 ml.

<sup>1)</sup> [2-(4-butylaminobenzoyl)oxyethyl]dimethylamonium-chlorid

**Vzhled roztoku.** 2 ml roztoku S se zředí vodou R na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,5 až 6,5; měří se roztok připravený zředěním 1 ml roztoku S vodou prostou oxidu uhličitého R na 10 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R. Vrstva se předem vyvíjí směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, hexanu R a dibutyletheru R (4 + 16 + 80) po dráze 12 cm, pak se vyjme a několik minut se suší v proudu teplého vzduchu. Vrstva se před použitím nechá ochladit.

**Zkoušený roztok.** 1,0 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

**Porovnávací roztok.** 50 mg kyseliny 4-aminobenzoové R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 10 ml.

Na vrstvu se nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, hexanu R a dibutyletheru R (4 + 16 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 10 min při 100 °C až 105 °C a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,05 %). Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku zůstává na startu.

**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

0,250 g se rozpustí v lihu 96% R a 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 30,08 mg C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

## † Tetracosactidum

Tetrakosaktid



2001

Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-  
10

Val-Gly-Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Val-Lys-Val-Tyr-Pro  
20

C<sub>136</sub>H<sub>210</sub>N<sub>40</sub>O<sub>31</sub>S

M<sub>r</sub> 2933,46

CAS 16960-16-0

Je to syntetický tetrakosapeptid, který má stejné pořadí aminokyselin, jako prvních 24 zbytků aminokyselin v molekule lidského kortikotropinu. Je dostupný jako octan a obsahuje vodu. Zvyšuje vyměšování kortikoidních hormonů nadledvin. Počítáno na bezvodou a kyselinou octovou prostou látku, účinnost je nejméně 800 m.j. v miligramu.

## Vlastnosti

Bílý nebo žlutý amorfni prášek. Je mírně rozpustný ve vodě.

## Zkoušky totožnosti

A. V podmínkách popsaných ve Stanovení obsahu zvyšuje zkoušená látka množství kortikosteronu vytvářeného izolovanými buňkami nadledvin potkanů.

B. Proveďte se elektroforéza (2.2.31) a tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) k dosažení dvojrozměrného rozdělení. Použijte se dvě desky s vrstvou *celulose pro chromatografii R1*.

**Zkoušený roztok.** 1 mg se rozpustí v 0,2 ml roztoku *octanu amonného R* (15,4 g/l), jehož pH se upraví *amoniakem zředěným RS2* na hodnotu 8,2. Potom se přidá 10 µl roztoku *trypsinu R* (2 g/l). Směs se 40 min inkubuje při 37 °C až 38 °C a pak se 3 min vaří ve vodní lázni. Nakonec se přidá 5 µl *kyseliny octové ledové R* a odpaří se do sucha při 40 °C a tlaku, který nepřesáhne 3 kPa. Sklovitý odparek se suší 1 h při 40 °C a pak se rozpustí v 0,1 ml *kyseliny octové ledové R*. Roztok se lyofilizuje, zbytek se rozpustí v 0,1 ml *vody R* a znovu se lyofilizuje. Konečný zbytek se 1 h suší při 45 °C a tlaku, který nepřesáhne 3 kPa, a pak se rozpustí v 50 µl *vody R*.

**Porovnávací roztok.** Připraví se současně a stejným způsobem jako zkoušený roztok; místo zkoušené látky se však použije *tetrakosaktid CRL*.

Vrstvy se postříkají roztokem elektrolytu, který obsahuje 0,2 % (V/V) *kyseliny octové ledové R* a 0,2 % (V/V) *pyridinu R*. Pomocí filtračních pásek 1,5 cm širokých se spojí konce vrstev s příslušnou komůrkou každého chromatografického žlábků. Celá nádoba se uzavře a nechá 30 min stát. Pak se nanese roztoky na anodovou stranu. Na první vrstvu se do rohu asi 2,5 cm od každé strany nanese 4 µl zkoušeného roztoku. Na druhou vrstvu se ve stejném místě nanese 4 µl porovnávacího roztoku. Obě vrstvy se vyvíjejí 90 min při napětí 280 V na 200 mm délky. Pak se suší 30 min na vzduchu a následovně 30 min v proudu vzduchu při 30 °C. Potom se na každé vrstvě provede druhé dělení chromatograficky. Vyvíjí se v pravém úhlu vzhledem ke směru elektroforézy směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *pyridinu R*, *vody R* a *1-butanolu R* (8 + 24 + 30 + 38) po dráze 15 cm. Vrstvy se usuší v proudu vzduchu a postříkají *ninhydrinem RS1*. Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají svou polohou skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku, ale jejich intenzita se může lišit.

## Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). –99° až –109°, počítáno na bezvodou látku prostou *kyseliny octové*. Měří se roztok připravený rozpuštěním 10,0 mg v 1,0 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *vody R* (1 + 99).

**Absorbance** (2.2.25). 1,0 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 5,0 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku při 240 nm až 280 nm. Absorpční maximum je při 276 nm. Absorbance v maximu je 0,51 až 0,61, počítáno na bezvodou látku prostou *kyseliny octové*. Poměr absorbance naměřené v maximu při 276 nm k absorbanci při 248 nm je 2,4 až 2,9.

**Aminokyseliny.** Stanoví se pomocí aminokyselinového analyzátoru. Přístroj se kalibruje směsí obsahující ekvimolární množství amoniaku, glycínu a L-forem následujících aminokyselin:

lysin	threonin	alanin	leucin
histidin	serin	valin	tyrosin
arginin	kyselina glutamová	methionin	fenyloalanin
kyselina asparagová	prolin	isoleucin	

spolu s polovinou ekvimolárního množství L-cystinu. Pro validaci metody se použije vhodný vnitřní standard, např. *norleucin R*.

**Zkoušený roztok.** 1,0 mg se převede do pečlivě vyčištěné 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 ponoří do mrazicí směsi –5 °C, sníží se tlak pod 133 Pa a dokonale se uzavře. Pak se zahřívá 16 h při 110 °C až 115 °C. Po ochlazení se zkumavka otevře a obsah se převede do 10ml baňky pomocí pětikrát 0,2 ml *vody R* a za sníženého tlaku se odpaří do sucha nad *hydroxidem draselným R*. Zbytek se převede do *vody R* a odpaří se za sníženého tlaku do sucha nad *hydroxidem draselným R*. Tento postup se opakuje ještě jednou. Zbytek se převede do vhodného tlumivého roztoku

pro analyzátor aminokyselin a zředí se stejným tlumivým roztokem na vhodný objem. K analýze aminoanalyzátoru se použije vhodný objem.

Obsah každé aminokyseliny se vyjádří v molech. Relativní poměr aminokyselin se vypočítá s předpokladem, že podíl valinu odpovídá 3. Hodnoty se pak pohybují v následujících rozmezích: lysin 3,5 až 4,7, histidin 0,9 až 1,1, arginin 2,7 až 3,3, serin 1,1 až 2,2, kyselina glutamová 0,9 až 1,1, prolin 2,5 až 3,5, glycin 1,8 až 2,2, methionin 0,9 až 1,1, tyrosin 1,7 až 2,2, fenylalanin 0,9 až 1,1. V hydrolyzátu mohou být dále přítomny pouze stopy ostatních aminokyselin, kromě tryptofanu.

#### Příbuzné peptidy.

A. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za použití odplyněných rozpouštědel.

*Zkoušený roztok.* 1,0 mg se rozpustí v 1 ml vody R.

*Porovnávací roztok (a).* 1,0 mg zkoušené látky se rozpustí v 1 ml roztoku kyseliny octové ledové R 1% (V/V), přidá se 50 µl směsi objemových dílů peroxidu vodíku koncentrovaného R a vody R (1 + 999). Nechá se 2 h stát.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 mg tetrakosaktidu CRL se rozpustí v 1 ml vody R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (10 µm),
- mobilní fáze, která je směsí 365 ml acetonitrilu R, 10,0 ml kyseliny octové ledové R a 10,0 g síranu amonného R, zředěné vodou R na 2000 ml. Průtoková rychlost je 2,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Nastříkne se po 20 µl každého roztoku a zajistí se, aby stříkačka, kterou se nastříkuje zkoušený roztok, nebyla kontaminována peroxidem. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je pík tetrakosaktidu odpovídající hlavnímu píku na chromatogramu zkoušeného roztoku a pík s menším retenčním časem odpovídající sulfoxidu tetrakosaktidu. Jeho plocha je významně větší než plocha příslušného píku na chromatogramu zkoušeného roztoku. Zkoušce lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píky odpovídajícími tetrakosaktidu a sulfoxidu tetrakosaktidu nejméně 7. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího sulfoxidu tetrakosaktidu není větší než 4 % součtu ploch všech píků. Nepřehlídí se k pikům rozpouštědla a mobilní fáze.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy celulosy pro chromatografii R.

*Zkoušený roztok.* 3,0 mg se rozpustí v 1,5 ml směsi stejných objemových dílů kyseliny octové zředěné RS a vody R.

*Porovnávací roztok (a).* 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů kyseliny octové zředěné RS a vody R na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů kyseliny octové zředěné RS a vody R na 10 ml.

*Porovnávací roztok (c).* K 0,5 ml zkoušeného roztoku se přidá 50 µl směsi objemových dílů peroxidu vodíku koncentrovaného R a vody R (1 + 999) a nechá se 2 h stát.

Na vrstvě se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku do asi 1 cm pruhů a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, pyridinu R, vody R a 1-butanolu R (4 + 24 + 30 + 42) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu vzduchu a postříká se ninhydrinem RSI. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je skvrna odpovídající polohou hlavní skvrně na chromatogramu zkoušeného roztoku, ale má menší intenzitu a navíc je přítomna výrazná skvrna sulfoxidu tetrakosaktidu s nižším  $R_F$ . Na chromatogramu zkoušeného roztoku není, kromě hlavní skvrny a skvrny sulfoxidu tetrakosaktidu, žádná skvrna intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (5,0 %) a nejvýše jedna taková skvrna může být intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,5 %).

**Peptidy.** Nejméně 85,0 %  $C_{136}H_{210}N_{40}O_{31}S$ , počítáno na bezvodou látku prostou kyseliny octové.

Vyhodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce (A) Příbuzné peptidy. Obsah  $C_{136}H_{210}N_{40}O_{31}S$  se vypočítá z výšek píků nebo jejich ploch na chromatogramu zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (b) a deklarovaného množství  $C_{136}H_{210}N_{40}O_{31}S$  v tetrakosaktidu CRL.

**Kyselina octová (2.5.34).** 8,0 % až 13,0 %.

*Zkoušený roztok.* 10,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (5 + 95) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

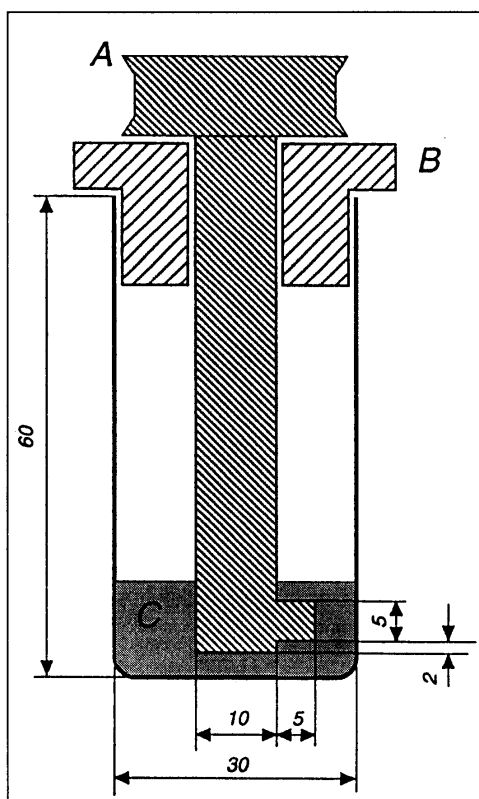
**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). 5,0 % až 16,0 %; stanoví se s 80,0 mg zkoušené látky.

### Stanovení účinnosti

Účinnost zkoušené látky se stanoví za daných podmínek porovnáním její schopnosti zvyšovat množství kortikosteronu produkovaného izolovanými buňkami z nadledvin potkanů s účinností mezinárodního referenčního přípravku tetraakosaktidu nebo porovnávacího přípravku kalibrovaného v mezinárodních jednotkách.

Mezinárodní jednotka je účinnost, kterou má deklarované množství mezinárodního referenčního přípravku, který se skládá ze syntetického tetraakosaktidu a mannitolu. Hodnotu účinnosti mezinárodního referenčního přípravku v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

Nalezená hodnota účinnosti je v rozmezí 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) nalezené účinnosti je v rozmezí 64 % až 156 % deklarované účinnosti.



**Obr. 1** Míchací zařízení

Rozměry v milimetrech

A - kladka a míchací lopatka,

B - ložisko,

C - inkubační roztok.

Použije se silikonované sklo, před použitím dobře vymyté vodou. Čtyři potkani, samci, každý vážící 200 g až 400 g, se usmrtí vykrvácením. Vyjmou se nadledviny, opatrně se očistí od okolní tukové tkáně a vloží se do roztoku B uchovávaného při 4 °C. Každá žláza se rozřízne na čtyři stejné díly a přenesse do vhodného míchacího zařízení z plastické hmoty (viz obrázek 1), ve kterém je 5 ml roztoku C udržovaného při 37 °C. Buňky nadledvin se dispergují mícháním směsi při 500 ot/min. Po 20 min se odstraní supernatantní tekutina, ochladí se na 4 °C, přidá se 5 ml roztoku C a znovu se míchá. Tento postup se opakuje ještě třikrát. Všechny pět supernatantních tekutin se spojí a odstředí se 30 min v polyethylenové zkumavce při 4 °C při postupném zvyšování rychlosti na 100  $g_n$ . Získaný sediment se suspenduje

v 8 ml roztoku D a 30 min se odstředí při 100  $g_n$ . Získaný sediment se znovu suspenduje v 8 ml roztoku D, směs se filtruje přes nylonovou síťku s otvory 100  $\mu m$  do polyethylenové kádinky a k filtrátu se přidá vhodný objem roztoku D (bylo zjištěno, že vhodný celkový objem je mezi 65 ml až 105 ml). Výsledná buněčná suspenze se uchovává při 4 °C.

Ze zkoušeného roztoku o vhodné koncentraci a z porovnávacího roztoku se připraví s ředicím roztokem E čtyři koncentrace v geometrické řadě s dvojnásobným ředěním. 0,1 ml z každého zředění se pipetuje do každé ze čtyř polystyrenových zkumavek a do každé zkumavky se přidá 1,0 ml výše připravené buněčné suspenze. Zkumavky se inkubují 2 h při 37 °C a pak se ochladí na 4 °C. 1 ml obsahu každé zkumavky se přenesení do skleněných zkumavek obsahujících 1,4 ml *dichlormethanu R*, směs se promíchá 10 s na vířivé míchačce a odstředí se 5 min při 3000  $g_n$ . 1 ml dichlormethanové vrstvy z každé zkumavky se přenesení, bez porušení vodné vrstvy, do skleněných zkumavek obsahujících 0,6 ml směsi objemových dílů *lihu 96% R* a *kyseliny sírové R* (15 + 35). Směs se 10 s míchá na vířivé míchačce, odstředí se 5 min při 1500  $g_n$  a nechá se 30 min stát.

Provede se fluorimetrie (2.2.21). Spodní vrstva se vystaví excitačnímu záření vhodné vlnové délky, např. 436 nm nebo 470 nm a měří se intenzita fluorescence v maximum mezi 530 nm a 545 nm. Jestliže roztoky nejsou při měření přeneseny do kyvet, je nutné vybrat zkumavky, v nichž fluorescenční hodnoty pro standard kortikosteronu se neliší mezi sebou více než o 5 %. Výsledek stanovení se počítá obvyklými statistickými metodami za použití lineární části logaritmické křivky odpovědi na dávce.

#### Roztok A

<i>chlorid sodný R</i>	6,60 g
<i>chlorid draselný</i>	0,353 g
<i>hydrogenuhličitan sodný R</i>	0,840 g
<i>dihydrogenfosforečnan draselný R</i>	0,161 g
<i>síran hořečnatý R</i>	0,291 g
<i>chlorid vápenatý R</i>	0,373 g
<i>HEPES R</i> ( <i>kyselina 2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethansulfonová</i> )	4,77 g

Výše uvedené látky se rozpustí v asi 950 ml *vody R*, pH roztoku se upraví *hydroxidem sodným 1 mol/l RS* na hodnotu 7,4, přidá se 60 mg *benzylpenicilinu sodné soli R* a takové množství *streptomyciniumsulfatu R*, které odpovídá 100 mg streptomycinu. Pak se roztok zředí *vodou R* na 1000 ml.

*Roztok B.* K roztoku A se přidá *glukosa R* (2 g/l).

*Roztok C.* K roztoku B se přidá kolagenasa získaná z *Clostridium histolyticum* a dostatečně čistá pro přípravu dispergovaných buněk (1 g/l).

*Roztok D.* K roztoku B se přidá *albumin hovězí R* (5 g/l).

*Roztok E.* Ke sterilnímu roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) se přidá *albumin hovězí R* (1 g/l) a pH roztoku se upraví *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS* na hodnotu 2,0.

#### Uchovávání

Pod dusíkem, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.  
Separandum.

#### Označování

V označení na obalu se uvede:

- účinnost v mezinárodních jednotkách na miligram,
- obsah peptidu v balení,
- podmínky uchovávání.

187. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Thiamini hydrochloridum zní:

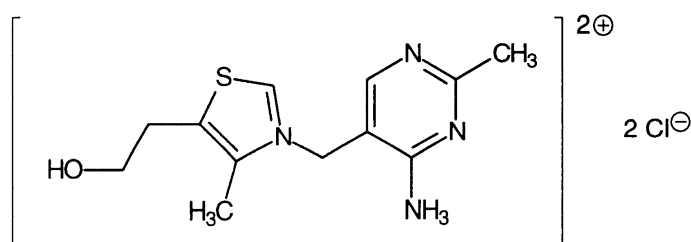
”

## † Thiamini hydrochloridum

Thiaminiumchlorid

*Synonyma.* Thiaminium dichloratum, vitamin B<sub>1</sub>

2001



C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>OS

*M*, 337,27

CAS 67-03-8

Je to 3-[(4-amonio-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazoliumdichlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>OS.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v glycerolu, těžce rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* A a C.

*Alternativní sestava zkoušek:* B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *thiaminiumchloridu* CRL. Jestliže se získaná spektra liší, rozpustí se jednotlivě zkoušená látka i referenční látka ve vodě R, roztoky se odpaří do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.
- B.** Asi 20 mg se rozpustí v 10 ml vody R, přidá se 1 ml kyseliny octové zředěné RS, 1,6 ml hydroxidu sodného 1 mol/l RS a zahřívá se 30 min na vodní lázni. Po ochlazení se přidá 5 ml hydroxidu sodného zředěného RS, 10 ml hexakvanoželezitanu draselného RS, 10 ml 1-butanolu R a 2 min se intenzivně protřepává; lihová vrstva intenzivně světle modře fluoreskuje, zejména v ultrafialovém světle při 365 nm. Zkouška se opakuje, přičemž se místo 1,6 ml hydroxidu sodného 1 mol/l RS použije 0,9 ml hydroxidu sodného 1 mol/l RS a 0,2 g siřičitanu sodného R; nevznikne prakticky žádná fluorescence.
- C.** Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

<sup>1)</sup> 3-[(4-amonio-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium-dichlorid

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 2,5 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R (připravené z vody destilované R) a zředí se jí na 25 ml.

**Vzhled roztoku.** 2,5 ml roztoku S se zředí vodou R na 5 ml. Vzniklý 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).

**Hodnota pH** (2.2.3). 2,7 až 3,3; měří se 2,5 ml roztoku S zředěného vodou prostou oxidu uhličitého R na 10 ml.

**Dusičnany.** K 0,4 ml roztoku S se přidá 1,6 ml vody R, 2 ml kyseliny sírové R a ochladí se. Na tento roztok se navrství 2 ml roztoku síranu železnatého R (80 g/l) připraveného v čas potřeby za použití vody prosté oxidu uhličitého R; na styku obou vrstev nevznikne hnědý prstenec.

**Sírany** (2.4.13). 5 ml roztoku S zředěného na 15 ml vodou destilovanou R vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 µg/g).

**Těžké kovy** (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (2 µg Pb/ml).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 5,0 %; stanoví se s 0,40 g zkoušené látky.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a 50 ml lihu 96% R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 16,86 mg C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>OS.

### Uchovávání

V dobře uzavřených nekovových obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.



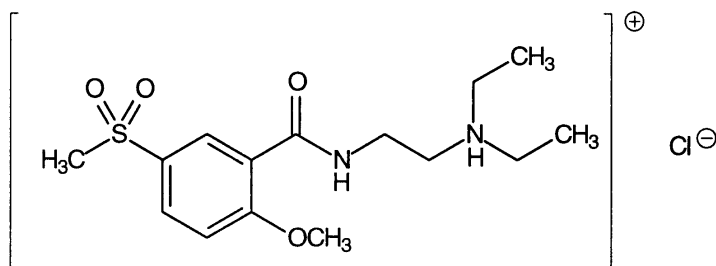
188. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Tiabendazolium doplňuje článek Tiapridi hydrochloridum, který zní:

”

## † Tiapridi hydrochloridum

Tiapridiumchlorid

2001 



$C_{15}H_{25}ClN_2O_4S$

$M_r$  364,89

CAS 51012-33-0

Je to *N,N*-diethyl-2-[(2-methoxy-5-methylsulfonyl)benzamido]ethylamoniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{15}H_{25}ClN_2O_4S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu a těžce rozpustný v ethanolu.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *tiapridiumchloridu* CRL.  
 B. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, 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 50,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1). Absorbance (2.2.25) roztoku S měřená při 450 nm není vyšší než 0,030.

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,0 až 6,0; měří se roztok S.

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

**Zkoušený roztok.** 0,400 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

**Porovnávací roztok.** 20,0 mg metoklopramidu nečistoty E CRL (tiaprid nečistota C) se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 50 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 20 ml.

Na vrstvu se nanese 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku a vyvíjí se směs objemových dílů *amoniaku* 26% R, *dioxanu* R, *methanolu* R a *dichlormethanu* R (2 + 10 + 14 + 90) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší na vzduchu,

<sup>1)</sup> *N,N*-diethyl-2-[(2-methoxy-5-methylsulfonyl)benzamido]ethylamonium-chlorid

postříká se roztokem *ninhydrinu R* (2 g/l) v *1-butanolu R* a zahřívá se 15 min při 100 °C. Skvrna odpovídající nečistotě C na chromatogramu zkoušeného roztoku není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,1 %).

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,100 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5,0 mg *tiapridiumchloridu CRL* a 5,0 mg *tiapridu N-oxidu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze připravené takto: 5,44 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 0,08 g *oktansulfonanu sodného R* se rozpustí v 780 ml *vody R*, pH se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,7 a zředí se *vodou R* na 800 ml; přidá se 150 ml *methanolu R* a 50 ml *acetonitrilu R* a promíchá se; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky tiapridu (retenční čas asi 9 min) a tiapridu *N-oxidu* (retenční čas asi 13 min) je nejméně 4,0.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času tiapridu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %) a součet ploch všech takových píků není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,3 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,05 %).

**Těžké kovy** (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 μg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (2 μg Pb/ml).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

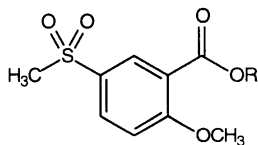
0,300 g se rozpustí ve 20 ml *kyseliny octové bezvodé R*, přidá se 20 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 36,49 mg  $C_{15}H_{25}ClN_2O_4S$ .

## Uchovávání

Separandum.

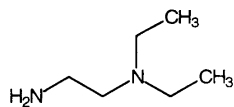
## Nečistoty



A. R = CH<sub>3</sub>; methyl-2-methoxy-5-(methylsulfonyl)benzoat<sup>2)</sup>,

<sup>2)</sup> methyl-2-methoxy-5-(methylsulfonyl)benzoát

B. R = H: kyselina 2-methoxy-5-(methylsulfonyl)benzoová,



C. N,N-diethylethylendiamin<sup>3)</sup>.

“

189. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ticlopidini hydrochloridum zní:

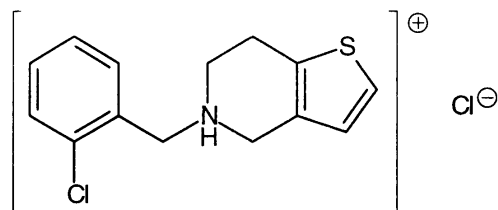
”

## † Ticlopidini hydrochloridum

Tiklopidiniumchlorid



2001



$C_{14}H_{15}Cl_2NS$

$M_r$  300,25

CAS 53885-35-1

Je to 5-(2-chlorbenzyl)-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,2-c]pyridiniumchlorid<sup>1)</sup>. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{14}H_{15}Cl_2NS$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě a v ethanolu, velmi těžce rozpustný v ethylacetatu.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. 40 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml (roztok A). 5,0 ml roztoku A se zředí vodou R na 100,0 ml (roztok B). Měří se absorbance (2.2.25) při 200 nm až 350 nm; roztok B vykazuje dvě absorpční maxima, při 214 nm a 232 nm. Pak se měří absorbance při 250 nm až 350 nm; roztok A vykazuje dvě absorpční maxima, při

<sup>3)</sup> N,N-diethylethan-1,2-diamin

<sup>1)</sup> 5-(2-chlorbenzyl)-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,2-c]pyridinium-chlorid

268 nm a 275 nm. Poměr absorpce naměřené v maximu při 268 nm k absorpaci naměřené v maximu při 275 nm je 1,1 až 1,2.

**B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky odpovídá spektru tablety *tiklopidiniumchloridu CRL*.

**C.** Asi 6 mg *kyseliny citronové R* se smíchá s 0,3 ml *acetanhydridu R*, přidá se asi 5 mg zkoušené látky a zahřívá se ve vodní lázni při 80 °C; vzniká červené zbarvení.

**D.** Asi 20 mg vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,5 g se rozpustí v roztoku *kyseliny chlorovodíkové R 1% (V/V)* a zředí se jí na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,5 až 4,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,5 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 20 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 0,250 g se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (20 + 80) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok.** 5,0 mg *tiklopidinu nečistoty F CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (20 + 80), přidá se 1,00 ml zkoušeného roztoku a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R (5 μm)*,
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,3 ml/min:
  - *mobilní fáze A* - roztok *pentansulfonanu sodného monohydrátu R (0,95 g/l)*, jehož pH bylo upraveno roztokem *kyseliny fosforečné R 50% (V/V)* na hodnotu 3,4,
  - *mobilní fáze B* - *methanol R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 45	80 → 20	20 → 80	lineární gradient
45 - 50	20	80	izokraticky
50 - 55	20 → 80	80 → 20	lineární gradient

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 10 μl směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (20 + 80) (kontrolní roztok). Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas tiklopidinu asi 15 min (viz obrázek 1).

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku na chromatogramu porovnávacího roztoku byla nejméně 5 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky tiklopidinu a nečistoty F na chromatogramu porovnávacího roztoku je nejméně 2,0 (je-li třeba, upraví se pH mobilní fáze A); pík tiklopidinu má poměr signálu k šumu nejméně 50.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího nečistotě F větší než polovina plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,05 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty F, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,05 %); součet ploch všech píků, kromě píku odpovídajícího tiklopidinu, není větší než plocha píku tiklopidinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy píku tiklopidinu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**Formaldehyd.** 0,200 g se rozpustí ve 4,0 ml vody R, přidá se 0,4 ml hydroxidu sodného zředěného RS a odstředí se. Supernatantní tekutina se zfiltruje přes bavlněnou vatu předem smočenou ve vodě R, zředí se vodou R na 5,0 ml, převede se do zkumavky a přidá se 5,0 ml acetylacetonu RS1. Zkumavka se 40 min zahřívá ve vodní lázni při 40 °C. Zkoušený roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací roztok, připravený současně stejným způsobem za použití 5,0 ml roztoku formaldehydu (0,8 µg/ml), získaného zředěním základního roztoku formaldehydu (5 µg CH<sub>2</sub>O/ml) vodou R (20 µg/g). Zkumavky se pozorují ve směru podélné osy zkumavky.

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g se rozpustí v roztoku methanolu R 85% (V/V) a zředí se jím na 20,0 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

**Voda,** semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

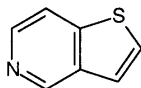
0,150 g se rozpustí v 15 ml kyseliny octové bezvodé R, přidá se 35 ml acetanhydridu R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 30,02 mg C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>NS.

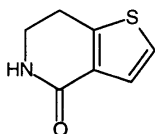
### Uchovávání

Separandum.

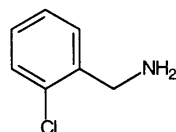
### Nečistoty



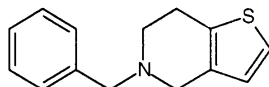
A. thieno[3,2-*c*]pyridin,



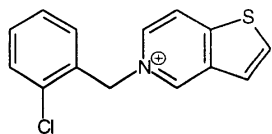
B. 6,7-dihydrothieno[3,2-*c*]pyridin-4(5*H*)-on,



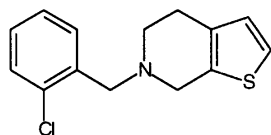
C. (2-chlorofenyl)methylamin,



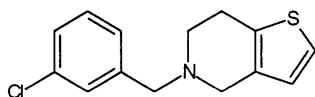
D. 5-benzyl-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,2-*c*]pyridin,



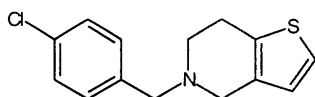
E. 5-(2-chlorobenzyl)thieno[3,2-c]pyridinium,



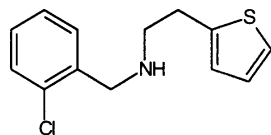
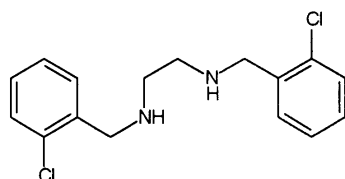
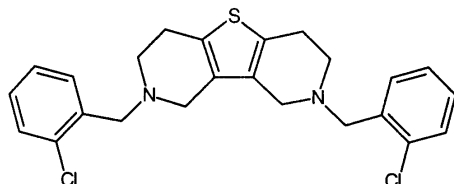
F. 6-(2-chlorobenzyl)-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,2-c]pyridin,



G. 5-(3-chlorobenzyl)-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,2-c]pyridin,



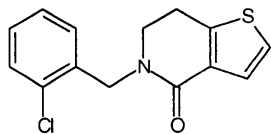
H. 5-(4-chlorobenzyl)-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,2-c]pyridin,

I. N-(2-chlorobenzyl)-2-(2-thienyl)ethylamin<sup>2)</sup>,J. N,N'-bis(2-chlorobenzyl)ethyldiamin<sup>3)</sup>,

K. 2,8-bis(2-chlorobenzyl)-1,2,3,4,6,7,8,9-oktahydrothieno[3,2-c:4,5-c']dipyridin (bis-tiklopidin),

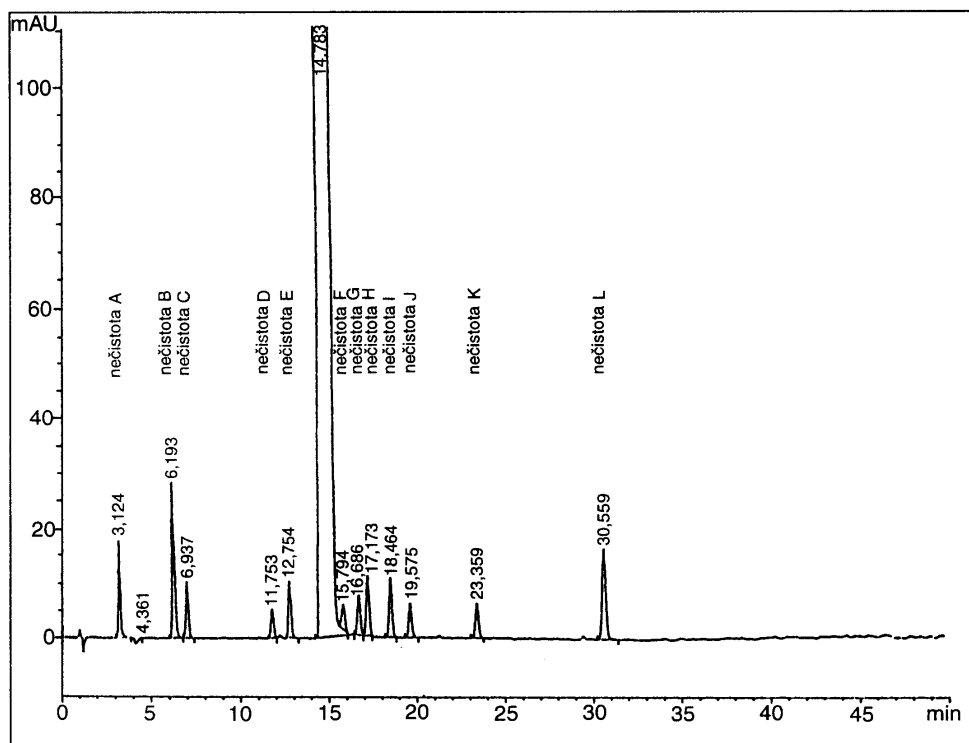
<sup>2)</sup> N-(2-chlorobenzyl)-2-(2-thienyl)ethylamin

<sup>3)</sup> N,N'-bis(2-chlorobenzyl)ethan-1,2-diamin



L. 5-(2-chlorobenzyl)-6,7-tetrahydrothieno[3,2-c]pyridin-4(5H)-on.

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část netvoří součást článku.



Obr. 1 Vzorový chromatogram pro zkoušku Příbuzné látky

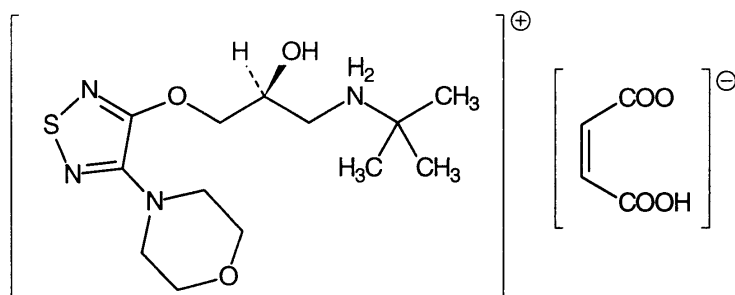
190. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Timololi hydrogenomaleas zní:

”

## † Timololi hydrogenomaleas

Timololiumhydrogenmaleinat

*Synonyma.* Timololi maleas, Timololium hydrogenmaleinicum



$C_{17}H_{28}N_4O_7S$

$M_r$  432,49

CAS 26921-17-5

Je to (2*S*)-*N*-[2-hydroxy-3-(4-morfolino-1,2,5-thiadiazol-3-yloxy)propyl]-*tert*-butylamonium-hydrogen-(*Z*)-butendioát<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{17}H_{28}N_4O_7S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

Taje při asi 199 °C, za rozkladu.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* A a B.

*Alternativní sestava zkoušek:* A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- Specifická optická otáčivost (2.2.7).  $-5,7^\circ$  až  $-6,2^\circ$ ; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,000 g v kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS a zředěním stejnou kyselinou na 10,0 ml.
- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *timololiumhydrogenmaleinatu* CRL.
- Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu, po vystavení působení jodových par. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- 0,1 g se rozetře se směsí obsahující 1 ml *hydroxidu sodného zředěného* RS a 3 ml *vody* R a třikrát se protřepává vždy s 5 ml *etheru* R. K 0,1 ml vodné vrstvy se přidá roztok 10 mg *resorcinolu* R ve 3 ml *kyseliny sírové* R a zahřívá se 15 min na vodní lázni; nevzniká fialově červené zbarvení. Zbytek vodné vrstvy se zneutralizuje *kyselinou sírovou*

<sup>1)</sup> (2*S*)-*N*-(2-hydroxy-3-[[4-(morfolin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3-yl]oxy]propyl)-*tert*-butylamonium-hydrogen-(*Z*)-butendioát



*zředěnou RS*, přidá se 1 ml *bromové vody R*, zahřívá se 15 min na vodní lázni, pak se zahřeje k varu a ochladí. K 0,2 ml tohoto roztoku se přidá roztok 10 mg *resorcinolu R* ve 3 ml *kyseliny sírové R* a zahřívá se 15 min na vodní lázni; vzniká fialově červené zbarvení. Přidá se 0,2 ml roztoku *bromidu draselného R* (100 g/l) a zahřívá se 5 min na vodní lázni; vznikne fialově modré zbarvení.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,5 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 není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H<sub>8</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,8 až 4,3; měří se roztok S.

**Enantiomerická čistota.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Zkouška se provádí za ochrany před aktinickým světlem.*

**Zkoušený roztok.** 30,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *dichlormethanu R* a *2-propanolu R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 30 mg *timololiumhydrogenmaleinatu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *dichlormethanu R* a *2-propanolu R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 15,0 mg (*R*)-*timololiumhydrogenmaleinatu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *dichlormethanu R* a *2-propanolu R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí směsí objemových dílů *dichlormethanu R* a *2-propanolu R* (1 + 3) na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 1 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *dichlormethanu R* a *2-propanolu R* (1 + 3) na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se smíchá s 1 ml porovnávacího roztoku (b).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem OD pro chirální separace R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs 2 ml *diethylaminu R*, 40 ml *2-propanolu R* a 960 ml *hexanu R*; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 297 nm.

Za těchto podmínek se objeví nejdříve pík (*R*)-izomeru.

Nastříkne se 5 μl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se po 5 μl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) rozlišení mezi píky (*R*)-enantiomeru a (*S*)-enantiomeru je nejméně 4,0; retenční čas hlavního píku (odpovídajícího (*S*)-enantiomeru) na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a) je totožný. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího (*R*)-enantiomeru větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %).

**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).** 0,50 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 50 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10 mg *timololiumhydrogenmaleinatu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 50 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 20 + 80) 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) (0,4 %). Nepřihlíží se ke skvrně zůstávající na startu. Vrstva se vystaví na 2 h působení jodových par. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,4 %). Nepřihlíží se ke skvrně zůstávající na startu.

**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**

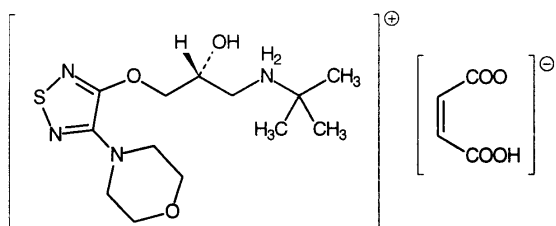
0,350 g se rozpustí v 60 ml *kyseliny octové bezvodé R*. Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 43,25 mg  $C_{17}H_{28}N_4O_7S$ .

**Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

**Nečistoty**

A. (2*R*)-*N*-[2-hydroxy-3-(4-morfolino-1,2,5-thiadiazol-3-yloxy)propyl]-*terc*-butylamonium-hydrogen-(*Z*)-butendioát<sup>2)</sup>.

“

191. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Tragacantha* doplňuje článek *Trapidilum*, který zní:

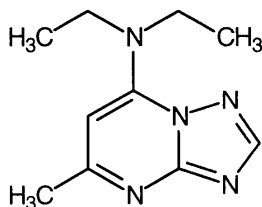
”

**† Trapidilum**

Trapidil



2001



$C_{10}H_{15}N_5$

$M_r$  205,26

CAS 15421-84-8

<sup>2)</sup> (2*R*)-*N*-(2-hydroxy-3-{[4-(morfolin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3-yl]oxy}propyl)-*terc*-butylamonium-hydrogen-(*Z*)-butendioát

Je to N,N-diethyl-5-methyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ylamin<sup>1)</sup>. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>.

## Vlastnosti

*Vzhled.* Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek.

*Rozpustnost.* Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v ethanolu a v dichlormethanu.

Taje při asi 102 °C.

## Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24).

*Porovnání s trapidilem CRL.*

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 2,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 100 ml.

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

**Kyselý nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,2 ml červeně methylové RS a 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS; roztok je červený. Přidá se 0,4 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok je žlutý.

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 5,0 mg trapidilu nečistoty A CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5,0 mg trapidilu nečistoty B CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* Smíchají se stejné objemové díly porovnávacího roztoku (a) a porovnávacího roztoku (b).

*Kolona:*

- *rozměry:* délka 0,125 m, vnitřní průměr 4,0 mm,

- *stacionární fáze:* silikagel oktaedecylsilanizovaný deaktivovaný pro chromatografii bazických látek R (5 μm).

*Mobilní fáze.* 50 ml methanolu R, 75 ml acetonitrilu R a 800 ml roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného R (1,7 g/l), jehož pH bylo upraveno kyselinou fosforečnou R na hodnotu 2,45 se zředí vodou R na 1000 ml.

*Průtoková rychlost.* 1,0 ml/min.

*Detekce.* Spektrofotometr při 205 nm.

*Nástrfik.* 10 μl.

*Doba záznamu.* Trojnásobek retenčního času trapidilu.

*Test způsobilosti systému:*

- *rozlišení:* nejméně 4,0 mezi píky nečistoty A a nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

*Limity:*

- *nečistota A:* nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %);

- *nečistota B:* nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %);

- *jakákoliv další nečistota:* nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %);

- *celkový obsah všech nečistot:* nejvýše 5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %);

- *zanedbatelnost píků:* 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,01 %).

**Chloridy (2.4.4).** Nejvýše 100 μg/g; 0,25 g se rozpustí v 10 ml vody R a zředí se jí na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy. Porovnávací roztok se připraví za použití 5 ml základního roztoku chloridů (5 μg Cl/ml).

<sup>1)</sup> N,N-diethyl-5-methyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ylamin

**Amonium** (2.4.1). Nejvýše 20 µg/g; 0,50 g vyhovuje limitní zkoušce A na amonium. Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia (100 µg NH<sub>4</sub>/ml).

**Těžké kovy** (2.4.8). Nejvýše 10 µg/g; 2,0 g se rozpustí ve 20 ml vody R. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy. 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 3 h ve vakuu při 60 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,180 g se rozpustí v 50 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

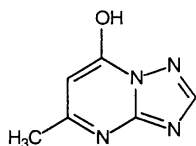
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 20,53 mg C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>.

### Uchovávání

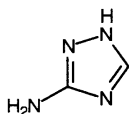
Chráněn před světlem.

Separandum.

### Nečistoty



A. 5-methyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ol,



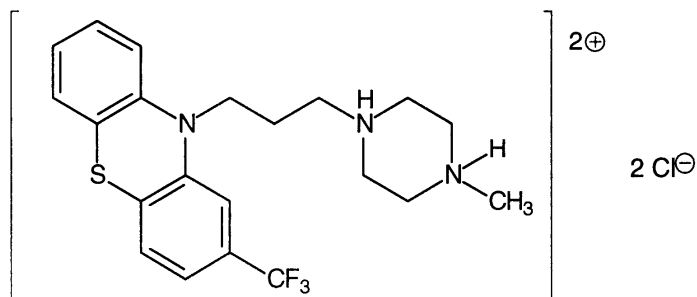
B. 1,2,4-triazol-3-ylamin.

192. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Trifluoperazini hydrochloridum zní:

”

## † Trifluoperazini hydrochloridum

Trifluoperaziniumchlorid



$C_{21}H_{26}Cl_2F_3N_3S$

$M_r$  480,42

CAS 440-17-5

Je to 1-methyl-4-{3-[2-(trifluormethyl)fenothiazin-10-yl]propyl}piperazin-1,4-dium-dichlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{21}H_{26}Cl_2F_3N_3S$ .

### Vlastnosti

Bílý až světle žlutý krystalický hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%. Tají při asi 242 °C, za rozkladu.

### Zkoušky totožnosti

- A. *Roztoky se chrání před přímým světlem a absorbance se měří ihned.* 50 mg se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 500 ml. Měří se absorbance roztoku (2.2.25) při 280 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 305 nm. 5 ml tohoto roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS na 100 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku při 230 nm až 280 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 255 nm. Specifická absorbance v tomto maximu je asi 650.
- B. Vyhovuje zkoušce Totožnost fenothiazinových derivátů tenkovrstvou chromatografií (2.3.3).
- C. K 0,25 g ve 100ml dělicí nálevce se přidá 5 ml vody R, 2 ml hydroxidu sodného zředěného RS a intenzivně se protřepává s 20 ml etheru R. Etherová vrstva se promyje 5 ml vody R, přidá se 0,15 g kyseliny maleinové R a ether se odpaří. Odparek se rekrystalizuje ze 30 ml lihu 96% R a vysuší se; teplota tání (2.2.14) je asi 192 °C.
- D. Asi 0,5 mg se rozpustí v 1 ml vody R, přidá se 0,1 ml bromové vody R a asi 1 min se protřepává. Potom se po kapkách přidává za stálého silného promíchávání 1 ml kyseliny sírové R; vzniká červené zbarvení.
- E. Asi 50 mg se rozpustí v 5 ml vody R a přidají se 2 ml kyseliny dusičné R; vznikne tmavě červené zbarvení, které přechází na světle žluté. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 1,6 až 2,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,0 g ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředěním stejným rozpouštědlem na 20 ml.

**Příbuzné látky.** Zkouška se provede za chránění před přímým světlem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R.

**Zkoušený roztok.** 0,2 g se rozpustí ve směsi objemových dílů diethylaminu R a methanolu R (5 + 95) a zředí se stejnou směsí rozpouštědlem na 10 ml. Roztok se připravuje těsně před použitím.

**Porovnávací roztok.** 1 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů diethylaminu R a methanolu R (5 + 95) na 200 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů acetonu R, diethylaminu R a cyklohexanu R (10 + 10 + 80) po dráze 12 cm. Vrstva se suší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 1,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,200 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 (2.2.20) bodu ekvivalence. Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 24,02 mg C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>Cl<sub>2</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>S.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

“

193. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Triglycerida saturata media zní:

”

## Triglycerida saturata media

Střední nasycené triacylglyceroly



2001

Je to směs triacylglycerolů nasycených mastných kyselin, převážně kyseliny oktanové (kyselina kaprylová C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>) a kyseliny dekanové (kyselina kaprinová C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>). Získává se z oleje extrahovaného z tvrdého sušeného podílu endospermu *Cocos nucifera* L. nebo ze sušeného endospermu *Elaeis guineensis* Jacq. Obsahují nejméně 95 % nasycených mastných kyselin s 8 a 10 atomy uhlíku.

## Vlastnosti

Bezbarvá nebo slabě nažloutlá olejovitá kapalina. Jsou prakticky nerozpustné ve vodě, mísitelné s lihem 96%, s dichlormethanem, s etherem petrolejovým a s mastnými oleji.

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a C.

Alternativní sestava zkoušek: A a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. 3,0 g se 30 min zahřívají s 50 ml směsi stejných objemových dílů *hydroxidu draselného 2 mol/l* v lihu RS a lihu 96% R pod zpětným chladičem. 10 ml směsi se uchová pro zkoušku totožnosti D. Ke 40 ml směsi se přidá 30 ml *vody R*, odpaří se lih a horký roztok se okyselí 25 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Po ochlazení se třepe s 50 ml *etheru prostého peroxidických látek R*. Etherová vrstva se třepe třikrát s 10 ml *chloridu sodného RS*, vysuší se nad *síranem sodným bezvodým R* a zfiltruje se. Ether se odpaří a za použití 0,300 g získaného zbytku se stanoví číslo kyselosti (2.5.1), jehož hodnota je 350 až 390.
- 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.
- D. 10 ml lihové směsi získané ve zkoušce A se odpaří do sucha na vodní lázni. Zbytek se přenesení do zkumavky, přidají se 0,3 ml *kyseliny sírové R* a zkumavka se uzavře zátkou, kterou prochází skleněná trubice tvaru U. Jeden konec trubice je ponořen do 3 ml roztoku *tryptofanu R* (10 g/l) ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny sírové R* a *vody R*. Zkumavka se 10 min zahřívá v lázni se silikonovým olejem při 180 °C a uvolněné páry se jímají v roztoku tryptofanu, který se pak 1 min zahřívá na vodní lázni; vzniká fialové zbarvení.

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled.** Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a není zbarvena intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>3</sub> (2.2.2, *Metoda I*).

**Zásadité nečistoty.** 2,00 g se rozpustí ve směsi 1,5 ml *lihu 96% R* a 3,0 ml *etheru R* a přidá se 0,05 ml *modře bromfenolové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na žluté se spotřebuje nejvýše 0,15 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Relativní hustota** (2.2.5). 0,93 až 0,96.

**Index lomu** (2.2.6). 1,440 až 1,452.

**Viskozita** (2.2.9). 25 mPa.s až 33 mPa.s.

**Číslo kyselosti** (2.5.1). Nejvýše 0,2.

**Číslo hydroxylové** (2.5.3, *Metoda A*). Nejvýše 10.

**Číslo jodové** (2.5.4). Nejvýše 1,0.

**Číslo peroxidové** (2.5.5, *Metoda A*). Nejvýše 1,0.

**Číslo zmýdelnění** (2.5.6). 310 až 360; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

**Nezmýdelnitelný podíl** (2.5.7). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

**Podíl mastných kyselin.** Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, *Metoda C*).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm se stěnou pokrytou vrstvou *makrogolu 20 000 R* (tloušťka filmu 0,5 μm),
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu; průtoková rychlost je 1,3 ml/min,
- plamenionizačního detektoru,
- injektorové smyčky (1 : 100) s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
kolona	0 - 1 1 - 35 35 - 50	70 70 → 240 240	5	izotermicky lineární gradient izotermicky
nástříkový prostor detektor		250 250		

Podíl mastných kyselin má následující složení:

- kyselina kapronová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina kaprylová: 50,0 % až 80,0 %,
- kyselina kaprinová: 20,0 % až 50,0 %,
- kyselina laurová: nejvýše 3,0 %,
- kyselina myristová: nejvýše 1,0 %.

**Těžké kovy (2.4.8).** Pokud je látka určena k jinému použití než k parenterální výživě, 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 10,00 g zkoušené látky.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

**Chrom.** Pokud je látka určena k parenterální výživě, nejvýše 0,05 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II).

*Zkoušený roztok.* 2,0 g se rozpustí v diisobutylketonu R a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se tři porovnávací roztoky rozpuštěním 2,0 g v minimálním množství diisobutylketonu R, přidáním 0,5 ml, 1,0 ml a 2,0 ml základního roztoku chromu (0,1 µg Cr/ml) a zředěním diisobutylketonem R na 10,0 ml.

Měří se absorbance při 357,8 nm za použití chromové lampy s dutou katodou jako zdroje záření, grafitové pece jako generátoru atomů a argonu R jako nosného plynu.

**Měď.** Pokud je látka určena k parenterální výživě, nejvýše 0,1 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II).

*Zkoušený roztok.* 2,0 g se rozpustí v diisobutylketonu R a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se tři porovnávací roztoky rozpuštěním 2,0 g v minimálním množství diisobutylketonu R, přidáním 1,0 ml, 2,0 ml a 4,0 ml základního roztoku mědi (0,1 µg Cu/ml) a zředěním diisobutylketonem R na 10,0 ml.

Měří se absorbance při 324,7 nm za použití měděné lampy s dutou katodou jako zdroje záření, grafitové pece jako generátoru atomů a argonu R jako nosného plynu.

**Olovo.** Pokud je látka určena k parenterální výživě, nejvýše 0,1 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II).

*Zkoušený roztok.* 2,0 g se rozpustí v diisobutylketonu R a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se tři porovnávací roztoky rozpuštěním 2,0 g v minimálním množství diisobutylketonu R, přidáním 1,0 ml, 2,0 ml a 4,0 ml základního roztoku olova (0,1 µg Pb/ml) a zředěním diisobutylketonem R na 10,0 ml.

Měří se absorbance při 283,3 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření, grafitové pece uvnitř pokryté vrstvou karbidu palladia jako generátoru atomů a argonu R jako nosného plynu. Kalcinace se provádí v přítomnosti kyslíku při teplotě pod 800 °C.

**Nikl.** Pokud je látka určena k parenterální výživě, nejvýše 0,1 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II).

*Zkoušený roztok.* 2,0 g se rozpustí v diisobutylketonu R a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se tři porovnávací roztoky rozpuštěním 2,0 g v minimálním množství diisobutylketonu R, přidáním 1,0 ml, 2,0 ml a 4,0 ml základního roztoku niklu (0,1 µg Ni/ml) a zředěním diisobutylketonem R na 10,0 ml.

Měří se absorbance při 232 nm za použití niklové lampy s dutou katodou jako zdroje záření, grafitové pece jako generátoru atomů a argonu R jako nosného plynu.

**Cín.** Pokud je látka určena k parenterální výživě, nejvýše 0,1 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II).



*Zkoušený roztok.* 2,0 g se rozpustí v *diisobutylketonu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se tři porovnávací roztoky rozpuštěním 2,0 g v minimálním množství *diisobutylketonu R*, přidáním 1,0 ml, 2,0 ml a 4,0 ml základního roztoku cínu (0,1 µg Sn/ml) a zředěním *diisobutylketonem R* na 10,0 ml.

Měří se absorbance při 286,3 nm za použití cínové lampy s dutou katodou jako zdroje záření, grafitové pece uvnitř pokryté vrstvou karbidu palladia jako generátoru atomů a *argonu R* jako nosného plynu.

### Uchovávání

Ve zcela naplněných obalech, chráněny před světlem.

### Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka určena pro parenterální výživu.

“

194. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Trolaminum zní:

”

---

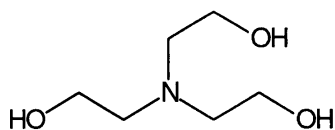
## Trolaminum

Trolamin

*Synonyma.* Triethanolaminum, triethanolamin



2001

 $C_6H_{15}NO_3$  $M_r$  149,19

CAS 102-71-6

Je to směs bází obsahující převážně 2,2',2''-nitrilotriethanol. Vztaženo na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 103,0 % celkových bází, počítáno jako (2,2',2''-nitrilotriethanol)  $C_6H_{15}NO_3$ .

### Vlastnosti

Čirá viskózní bezbarvá nebo slabě nažloutlá kapalina, silně hygroskopická. Je mísitelný s vodou a lihem 96%, dobře rozpustný v dichlormethanu, těžce rozpustný v etheru.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* B a C.

*Alternativní sestava zkoušek:* A, B a D, viz *Obecné zásady (1.2)*.

A. Relativní hustota (2.2.5). 1,120 až 1,130.

**B.** Index lomu (2.2.6). 1,482 až 1,485.

**C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá přibližně retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**D.** K 1 ml se přidá 0,3 ml *síranu měďnatého RS*. Vzniká modré zbarvení, které se nezmění po přidání 2,5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zahřátí k varu.

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 12 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $H_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 0,100 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetanhydridu R* a *pyridinu bezvodého R*, zředí se stejnou směsí na 10,0 ml a 30 min se zahřívá při 50 °C.

**Porovnávací roztok.** 50 mg *diethanolaminu R*, 50 mg *ethanolaminu R* a 0,400 g *trolaminu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetanhydridu R* a *pyridinu bezvodého R*, zředí se stejnou směsí na 50,0 ml a 30 min se zahřívá při 50 °C.

Chromatografický postup se provádí obvykle za použití:

- kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2,2 mm, naplněné *křemelinou silanizovanou pro plynovou chromatografii R* impregnovanou 5% *poly[(kvanpropyl)(methyl)][(fenyl)(methyl)]siloxanu R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 35 ml/min,
- plamenioionizačního detektoru s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
kolona	0 - 10	140	-	izotermicky
	10 - 40	140 → 200	2	lineární gradient
	40 - 45	200	-	izotermicky
nástřikový prostor detektor		250 250		

Nástříkne se 1 µl zkoušeného roztoku a 1 µl porovnávacího roztoku. Retenční časy jsou: ethanolaminu asi 7 min, trolaminu asi 19 min, diethanolaminu asi 23 min.

Procentuální obsah příbuzných látek se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku metodou normalizace. Nepřihlíží se k píku rozpouštědla. Obsah ethanolaminu není větší než 0,2 %, obsah diethanolaminu není větší než 1,0 % a celkový obsah všech ostatních příbuzných látek není větší než 0,5 %. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou tři zřetelně oddělené píky.

**N-Nitrosodiethanolamin.** Nejvýše 25 ng/g; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

*Zkouška se provádí v digestoři a používají se ochranné rukavice a brýle.*

**Zkoušený roztok.** 100,0 g se smíchá ve vhodném destilačním přístroji se 100,0 ml *ethylenglykolu R* a opatrně se oddestiluje 10,0 ml pod vakuem, za tlaku nepřevyšujícím 1,3 kPa. Z tohoto destilátu se oddestiluje 1 ml.

**Porovnávací roztok.** 25,0 mg *N-nitrosodiethanolaminu R* se rozpustí v *ethylenglykolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethylenglykolem R* na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethylenglykolem R* na 50,0 ml.

Chromatografický postup se provádí obvykle za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R* (tloušťka filmu 0,25 µm),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 0,75 ml/min a dělicím poměru 1 : 15,

- hmotnostně spektrometrického detektoru, při 72 m/z, s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
kolona	0 - 2	180	-	izotermicky
	2 - 8	180 → 240	10	lineární gradient
	8 - 25	240	-	izotermicky
nástříkový prostor		240		
detektor		250		

Nastříknou se 3 µl zkoušeného roztoku a 3 µl porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího N-nitrosodiethanolaminu (retenční čas asi 20 min) není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**Těžké kovy** (2.4.8). 5 ml roztoku S se zředí vodou R na 30 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (1 µg Pb/ml).

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky. Otevře se titrační nádobka, zkoušená látka se převede přímo do předem ztitrovaného rozpouštědla. Ihned se uzavře.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky. Počáteční zahřívání na vodní lázni se neprovádí.

### Stanovení obsahu

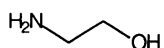
1,200 g se rozpustí v 75 ml vody prosté oxidu uhličitého R, přidá se 0,3 ml červeně methylové RS a titruje se kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS.

1 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS odpovídá 149,2 mg C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>.

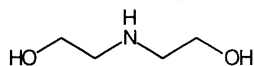
### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

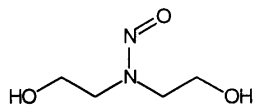
### Nečistoty



A. 2-aminoethanol (ethanolamin),



B. 2,2'-iminodiethanol (diethanolamin),



C. 2,2'-(nitrosoimino)diethanol (N-nitrosodiethanolamin)<sup>1)</sup>.

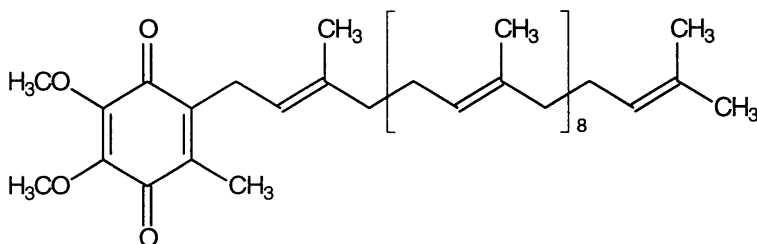
<sup>1)</sup> N-nitrosodiethanolamin

195. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Tyrosinum doplňuje článek Ubidecarenonum, který zní:

”

## Ubidecarenonum

Ubidekarenon



$C_{59}H_{90}O_4$

$M_r$  863,35

CAS 303-98-0

Je to 2-[(all-*E*)-3,7,11,15,19,23,27,31,35,39-dekamethyltetrakonta-2,6,10,14,18,22,26,30,34,38-deceny]-5,6-dimethoxy-3-methylbenzen-1,4-dion. Obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny  $C_{59}H_{90}O_4$ .

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

### Vlastnosti

Žlutý nebo oranžový krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu a velmi těžce rozpustný v ethanolu.

Působením světla se postupně rozkládá a tmavne.

Taje při asi 48 °C.

Všechny postupy se provádějí za ochrany před světlem.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *ubidekarenonu CRL*. Měří se látky ve formě tablet s *bromidem draselným R*.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

### Zkoušky na čistotu

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí ve 25,0 ml *ethanolu R* zahříváním při asi 50 °C po dobu 2 min a nechá se ochladit.

*Porovnávací roztok (a).* 5 mg *ubidekarenonu CRL* se rozpustí v 5 ml *ethanolu R* zahříváním při asi 50 °C po dobu 2 min a nechá se ochladit.

*Porovnávací roztok (b).* 2 mg *ubidekarenonu nečistoty D CRL* se rozpustí ve 2 ml zkoušeného roztoku zahříváním při asi 50 °C po dobu 2 min a nechá se ochladit. 1 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 50 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *ethanolem 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* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *ethanolu R* a *methanolu R2* (20 + 80); průtoková rychlost je 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 275 nm.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (c). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 30 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (b). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek retenční časy jsou: nečistoty D asi 8 min a *ubidekarenonu* asi 12 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistoty D a *ubidekarenonu* je nejméně 6,5.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku (c) a chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *ubidekarenonu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1,0 %). Nepřehlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,05 %).

**Nečistota F.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí ve 25,0 ml *hexanu R*.

*Porovnávací roztok (a).* 10,0 mg *ubidekarenonu pro test způsobilosti CRL* se rozpustí v 10,0 ml *hexanu R*.

*Porovnávací roztok (b).* 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *hexanem R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (7 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *ethylacetatu R* a *hexanu R* (3 + 97); průtoková rychlost je 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 275 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek retenční časy jsou: nečistoty F asi 8,5 min a *ubidekarenonu* asi 10 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže jsou píky nečistoty F a *ubidekarenonu* oddělené na základní linii.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku. Plocha píku odpovídajícího nečistotě F není větší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %).

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

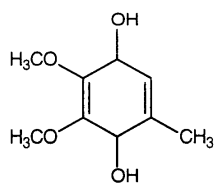
## Stanovení obsahu

50,0 mg se rozpustí v 1,0 ml *hexanu R* a zředí se *ethanolem R* na 50,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 50,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 275 nm. K výpočtu obsahu  $C_{59}H_{90}O_4$  se použije specifická absorbance, jejíž hodnota je 169.

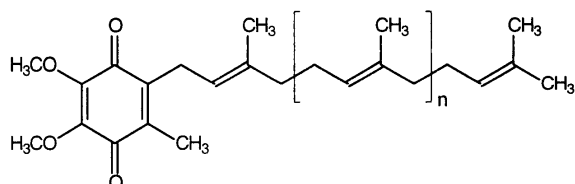
## Uchování

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

## Nečistoty



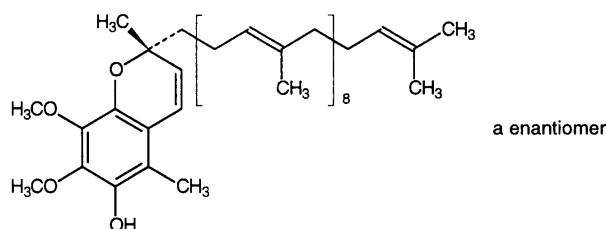
A. 2,3-dimethoxy-5-methyl-2,5-cyklohexadien-1,4-diol<sup>1)</sup>,



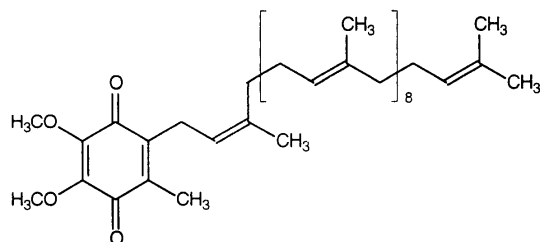
B.  $n = 5$ : 2-[(all-*E*)-3,7,11,15,19,23,27-heptamethyloktakosa-2,6,10,14,18,22,26-heptaenyl]-5,6-dimethoxy-3-methylbenzen-1,4-dion (ubichinon-7),

C.  $n = 6$ : 5,6-dimethoxy-3-methyl-2-[(all-*E*)-3,7,11,15,19,23,27,31-oktamethyldotriakonta-2,6,10,14,18,22,26,30-oktaenyl]benzen-1,4-dion (ubichinon-8),

D.  $n = 7$ : 5,6-dimethoxy-3-methyl-2-[(all-*E*)-3,7,11,15,19,23,27,31,35-nonamethylhexatriakonta-2,6,10,14,18,22,26,30,34-nonaenyl]benzen-1,4-dion (ubichinon-9),



E. (2*RS*)-7,8-dimethoxy-2,5-dimethyl-2[(all-*E*)-4,8,12,16,20,24,28,32,36-nonamethylheptatriakonta-3,7,11,15,19,23,27,31,35-nonaenyl]-2*H*-1-benzopyran-6-ol (ubikromenol),



F. 2-[(2*Z*,6*E*,10*E*,14*E*,18*E*,22*E*,26*E*,30*E*,34*E*,38*E*)-3,7,11,15,19,23,27,31,35,39-dekamethyl-2,6,10,14,18,22,26,30,34,38-tetrakontadecenyl]-5,6-dimethoxy-3-methylbenzen-1,4-dion ((*Z*)-izomer ubidekarenonu).

<sup>1)</sup> 2,3-dimethoxy-5-methylcyklohexa-2,5-dien-1,4-diol

196. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Valerianae radix* zní:

”

## Valerianae radix

Kozlíkový kořen

*Synonymum. Radix valerianae*



2001

Jsou to celé usušené oddenky, kořeny a výběžky druhu *Valeriana officinalis* L. *sensu lato* nebo jejich úlomky. Neřezaná droga obsahuje nejméně 5 ml silice v 1 kilogramu drogy a řezaná droga obsahuje nejméně 3 ml silice v 1 kilogramu drogy, obojí vztaženo na vysušenou drogu. Droga obsahuje nejméně 0,17 % seskviterpenových kyselin, počítáno jako kyselina valerénová ( $C_{15}H_{22}O_2$ ;  $M_r$  234,0), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Droga má charakteristický pach.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A.** Oddenek je žlutošedý až světle hnědošedý, opačně kuželovitý až válcovitý, až asi 50 mm dlouhý, o průměru 30 mm; bazální část je prodloužená nebo zploštělá, zpravidla úplně pokrytá četnými kořeny. Na vrcholu je obvykle jamkovitá jizva po nadzemní části rostliny; zbytky stonku jsou přítomné jen zřídka. Na podélném řezu je patrná dřev s centrální dutinou, s přehrádkami. Četné, převážně kuželovité kořeny o průměru 1 mm až 3 mm jsou většinou více než 100 mm dlouhé, mají stejnou barvu jako oddenek. Vlákňité postranní kořínky jsou lámavé a nepříliš početné. Lom krátký. Výběžky jsou charakteristické nápadnými uzlinami oddělenými podélně rýhovanými internodiemi 20 mm až 50 mm dlouhými. Lom vláknitý.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je světle žlutošedý až světle šedohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chlortalhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: buňky obsahující světle hnědou pryskyřici nebo kapky silice; jednotlivé sklereidy s pravouhlými tečkovanými stěnami 5 μm až 15 μm silnými; síťovitě ztlustlé cévy dřeva; zřídka úlomky korku a úlomky pokožky, někdy s kořenovými vlásky. Pozoruje se pod mikroskopem v roztoku *glycerolu R 50% V/V*. Jsou patrné četné úlomky parenchymu, obsahující jednoduchá nebo složená škrobová zrna; jednoduchá škrobová zrna jsou kulovitá nebo protáhlá o průměru 5 μm až 15 μm, někdy se šterbinovitou nebo paprčitou trhlinou; složená škrobová zrna jsou dvoučetná až šestičetná o celkovém průměru až 20 μm.
- 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 v 25 ml baňce smíchá s 6,0 ml *methanolu R*, 15 min se protřepává a pak se zfiltruje. Baňka i filtr se promyjí malým množstvím *methanolu R* tak, aby konečný objem filtrátu činil 5 ml. Filtrát se odpaří na asi 2 ml a smíchá se s 3 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (100 g/l). Protřepe se dvakrát 5 ml *dichlormethanu R*. Spodní vrstva se oddělí a odstraní se. 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 5 ml *dichlormethanu R*. Spojené spodní vrstvy se zfiltrují přes *síran sodný bezvodý R*. Filtrát se odpaří do sucha, zbytek se rozpustí v 1,0 ml *dichlormethanu R*.  
*Porovnávací roztok.* 5 mg *fluoresceinu R* a 5 mg *červeně sudanové G R* se rozpustí ve 20,0 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů po 20 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové 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 ve střední části červená skvrna (červeně sudanová G) a ve spod-

ní části zelenožlutá skvrna (fluorescein). Vrstva se postříká *anisaldehydem RS*, zahřívá se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je fialově modrá skvrna (kyselina hydroxyvalerenová) přibližně odpovídající polohou skvrně fluoresceinu na chromatogramu porovnávacího roztoku a fialová skvrna (kyselina valerenová) přibližně odpovídající polohou skvrně červeně sudanové G na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v horní polovině další, většinou méně intenzivní růžové až fialové skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi (2.8.2).** Nejvýše 5 % zbytků stonků a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 12,0 %; 1,000 g dobře zhomogenizované práškové drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 12,0 %.

**Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové (2.8.1).** Nejvýše 5,0 %.

### Stanovení obsahu

**Silice.** Proveďte se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 40,0 g čerstvě práškové drogy (500) se destiluje 4 h rychlostí 3 ml/min až 4 ml/min ve 2000ml baňce s 500 ml *vody R* jako destilační kapaliny. Do dělené zkumavky se přidá 0,50 ml *xylenu R*.

**Seskviterpenové kyseliny.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 1,50 g práškové drogy (710) se v 100ml baňce s kulatým dnem a se zabroušeným hrdlem smíchá s 20 ml *methanolu bezvodého R*. Směs se zahřívá 30 min na vodní lázni pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje. Filtr se zbytkem drogy se převede zpět do 100ml baňky s kulatým dnem. Přidá se 20 ml *methanolu bezvodého R* a směs se zahřívá 15 min na vodní lázni pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje. Spojené filtráty se zředí *methanolem bezvodým R*, kterým byla předem promyta baňka i filtr, na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok.** Připraví se *bezprostředně před použitím, za ochrany před přímým světlem*. 30 mg *danthronu R* se rozpustí v *methanolu bezvodém R* a zředí se jím na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem bezvodým R* na 50,0 ml.

Chromatografie 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 o průtokové rychlosti 1,5 ml/min:
  - *mobilní fáze A* - směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *kyseliny fosforečné R* (5 g/l) (20 + 80),
  - *mobilní fáze B* - směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *kyseliny fosforečné R* (5 g/l) (80 + 20),

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 5	55	45	izokraticky
5 - 18	55 → 20	45 → 80	lineární gradient
18 - 20	20	80	izokraticky
20 - 22	20 → 55	80 → 45	lineární gradient

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm,
- injektorové smyčky, 20 μl.

Nastříkne se zkoušený roztok a porovnávací roztok.

Jsou-li chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, relativní retenční časy (vztahené k píku *danthronu*) jsou: kyselina acetoxyvalerenová asi 0,7 a kyselina valerenová asi 1,2.

Obsah kyseliny acetoxyvalerenové v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A_2 \cdot m_1 \cdot 11,51}{A_1 \cdot m_2}$$



Obsah kyseliny valerénové v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A_3 \cdot m_1 \cdot 8,09}{A_1 \cdot m_2}$$

Obsah obou seskviterpenových kyselin v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{\left[ \frac{A_2 \cdot 11,51}{A_1} + \frac{A_3 \cdot 8,09}{A_1} \right] \cdot m_1}{m_2}$$

v nichž značí:

$A_1$  - plochu píku odpovídajícího danthronu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$A_2$  - plochu píku odpovídajícího kyselině acetoxyvalerénové na chromatogramu zkoušeného roztoku,

$A_3$  - plochu píku odpovídajícího kyselině valerénové na chromatogramu zkoušeného roztoku,

$m_1$  - navážku danthronu v porovnávacím roztoku v gramech,

$m_2$  - navážku zkoušené drogy v gramech.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

“

197. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Vaselinum flavum zní:

”

## Vaselinum flavum

Žlutá vazelína



Je to čištěná směs polotuhých uhlovodíků získaných z ropy. Může obsahovat vhodnou antioxidační přísadu.

### Vlastnosti

Žlutá průsvitná roztíratelná hmota, která po roztavení slabě fluoreskuje v denním světle.

Je prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v dichlormethanu, prakticky nerozpustná v lihu 96% a v glycerolu.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

**A.** Teplota skápnutí (2.2.17) je 40 °C až 60 °C a neliší se o více než 5 °C od hodnoty uvedené v označení na obalu. Plnění nádobky se následujícím způsobem modifikuje: zkoušená látka se zahřeje na 118 °C až 122 °C za míchání k dosažení stejnoměrnosti, pak se ochladí na 100 °C až 107 °C. Kovová nádobka se zahřeje v sušárně na 103 °C až 107 °C, vyjme se ze sušárny, umístí se na čisté plotně nebo keramické dlaždici a zcela se naplní dostatečným množstvím roztaveného vzorku. Naplněná nádobka se 30 min chladí na keramické dlaždici a pak se umístí na dalších

30 min až 40 min do vodní lázně při 24 °C až 26 °C. Povrch vzorku se uhladí jedním tahem nože nebo žiletky, přitom je třeba se vyvarovat stlačení vzorku.

- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se porovná s referenčním spektrem Ph. Eur. žluté vazelíny. Větší píky získaného spektra odpovídají polohou a intenzitou píků referenčního spektra Ph. Eur.
- C.** K homogenní fázi vzniklé roztavením 2 g se přidají 2 ml vody R, 0,2 ml jodu 0,05 mol/l RS, směs se protřepe; po ochlazení je tuhá horní vrstva fialově růžová.
- D.** Zkouška Vzhled, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled.** Zkoušená látka je žlutá. 12 g se roztaví na vodní lázni. Roztavená hmota není zbarvena intenzivněji než směs objemových dílů základního žlutého roztoku a základního červeného roztoku (7,6 + 2,4) (2.2.2, Metoda II).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 10 g se přidá 20 ml vroucí vody R a protřepává se intenzivně 1 min, po ochlazení se dekantuje. K 10 ml vodné vrstvy se přidá 0,1 ml fenolftaleinu RS; roztok je bezbarvý. Ke změně zbarvení indikátoru na červené se spotřebuje nejvýše 0,5 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS.

**Konzistence** (2.9.9). 100 až 300.

**Vyšší aromatické uhlovodíky.** Použijí se zkoumadla určená pro absorpční spektrofotometrii v ultrafialové oblasti.

**Zkoušený roztok.** 1,0 g se rozpustí v 50 ml hexanu R, který byl předem protřepán dvakrát s 1/5 svého objemu dimethylsulfoxidem R. Roztok se převede do 125ml dělicí nálevky (kohout ani zátky nejsou namazány), přidá se 20 ml dimethylsulfoxidu R a protřepává se intenzivně 1 min. Nechá se stát do oddělení dvou čirých vrstev. Spodní vrstva se převede do jiné dělicí nálevky. Extrakce se opakuje s dalšími 20 ml dimethylsulfoxidu R. Spojené spodní vrstvy se protřepávají intenzivně 1 min s 20 ml hexanu R. Nechá se stát do oddělení dvou čirých vrstev. Spodní vrstva se dimethylsulfoxidem R zředí na 50,0 ml.

**Kontrolní roztok.** 10 ml dimethylsulfoxidu R se protřepává intenzivně 1 min s 25 ml hexanu R; použije se čirá spodní vrstva.

**Porovnávací roztok.** Roztok naftalenu R (9,0 mg/l) v dimethylsulfoxidu R.

Absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku měřená při 260 nm až 420 nm při tloušťce vrstvy 40 mm proti kontrolnímu roztoku není při žádné vlnové délce vyšší než absorbance porovnávacího roztoku naměřená v maximu při 278 nm při tloušťce vrstvy 40 mm proti kontrolnímu roztoku.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,05 %; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

### Uchovávání

Chráněna před světlem.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- jmenovitá teplota skápnutí,
- kde je to vhodné, název a koncentrace přidané antioxidační přísady.

198. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Vitamini A pulvis, Vitaminum A, Vitaminum A densatum oleosum a Vitaminum A in aqua dispergibile znějí:

”

## † Vitamini A pulvis

Vitamin A prášek



2001

Je to prášková forma syntetického esteru retinolu (*Vitaminum A*) připravená jeho dispergováním v základu se želatínou (*Gelatina*) nebo arabskou klovatinou (*Acaciae gummi*), nebo jinou vhodnou látkou.

Deklarovaný obsah vitamínu A je nejméně 250 000 m.j. v 1 gramu. Obsahuje 95 % až 115,0 % obsahu uvedeného v označení na obalu. Může obsahovat vhodné stabilizátory jako antioxidanty.

### Vlastnosti

Nažloutlý prášek obvykle ve formě částic téměř stejné velikosti, které v závislosti na složení jsou prakticky nerozpustné ve vodě, nebo bobtnají anebo tvoří emulzi.

### Zkouška totožnosti

Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu *F<sub>254</sub> pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** Množství zkoušeného přípravku odpovídající asi 17 000 m.j. vitamínu A se vpraví do 20ml zkumavky se zabroušenou zátkou. Přidá se asi 20 mg *bromelinů R*, 2 ml *vody R* a asi 150 µl *2-propanolu R*, mírně se míchá 2 min až 5 min ve vodní lázni při 60 °C až 65 °C. Po ochlazení na teplotu nižší než 30 °C se přidá 5 ml *2-propanolu R* stabilizovaného *butylhydroxytoluenem R* (1 g/l). Intenzivně se třepě 1 min, nechá se několik minut stát a použije se supernatantní tekutina.

**Porovnávací roztok.** Připraví se porovnávací roztok obsahující asi 0,01 mg *esterů retinolu CRL* v mikrolitru (tj. 3,3 m.j. každého esteru v mikrolitru) v *2-propanolu R* stabilizovaném *butylhydroxytoluenem R* (1 g/l).

Na vrstvu se nanese po 3 µl každého roztoku a vyvíjí se ihned směsí objemových dílů *etheru R* a *cyklohexanu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Zkoušku totožnosti lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou jednotlivé skvrny odpovídajících esterů. Pořadí eluce od startu k čelu je: retinolacetat, retinolpropionat a retinolpalmitat. Složení zkoušeného roztoku je srovnatelné s odpovídající hlavní skvrnou nebo skvrnami, které byly získány s porovnávacím roztokem.

### Stanovení obsahu

*Stanovení obsahu se provede, co možná nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem, bez přístupu oxidačních látek a katalyzátorů oxidace (např. měď, železo), kyselin a dlouhodobějšího zahřívání.*

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok (a).** Množství zkoušeného přípravku odpovídající asi 120 000 m.j. vitamínu A navážené s přesností 0,1 % se vpraví do 50ml odměrné baňky. Přidá se 20 mg až 30 mg *bromelinů R*, 20 mg až 30 mg *butylhydroxytoluenů R*, 2,0 ml *vody R* a 0,15 ml *2-propanolu R*. Mírně se zahřívá 2 min až 5 min ve vodní lázni při 60 °C až 65 °C. Po ochlazení na teplotu nižší než 30 °C se přidá 20 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l* v *2-propanolu RS*. Mírně se 5 min míchá (doporučuje se ultrazvuková lázeň). Zředí se *2-propanolem R* na 50,0 ml a homogenizuje se opatrně tak, aby nevznikly vzduchové bubliny. Větší nebo menší zákal roztoku může být vyvolán zbytkem základu.

**Zkoušený roztok (b).** 20 mg až 30 mg *butylhydroxytoluenů R* se vpraví do 50ml odměrné baňky, přidá se 5 ml *2-propanolu R*, 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se *2-propanolem R* na 50,0 ml. Homogenizuje se opatrně tak, aby nevznikly vzduchové bubliny. Před nástřikem se zfiltruje.

*Porovnávací roztok (a).* Asi 120 mg *retinolacetatu CRL* naváženého s přesností 0,1 % se vpraví do 50ml odměrné baňky a ihned se rozpustí v 5 ml *pentanu R*, přidá se 20 mg až 30 mg *butylhydroxytoluenu R* a 20 ml *tetrabutylamoniumpydroxidu 0,1 mol/l v 2-propanolu RS*. Mírně se míchá 5 min (doporučuje se ultrazvuková lázeň). Zředí se *2-propanolem R* na 50,0 ml a homogenizuje se opatrně tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

*Porovnávací roztok (b).* 20 mg až 30 mg *butylhydroxytoluenu R* se vpraví do 50ml odměrné baňky, přidá se 5 ml *2-propanolu R*, 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se *2-propanolem R* na 50,0 ml. Homogenizuje se opatrně tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

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, která je směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (5 + 95). Průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 325 nm,
- injektorové smyčky.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je hlavní pík odpovídající all-(*E*)-retinolu, jehož retenční čas je asi 3 min,
- na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) není pík odpovídající nezmýdelněnému retinolacetatu při retenčním čase asi 6 min.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (b) tak, aby získaná absorbance při 325 nm byla v rozmezí 0,5 až 1,0 a chromatogram se zaznamená tak, aby výška píku vitamínu A byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Celkem se provede šest takových nástříků. Relativní směrodatná odchylka odezvy porovnávacího roztoku (b) je nejvýše 1 %.

Nastříkne se stejný objem zkoušeného roztoku (b) a chromatogram se zaznamenává stejným způsobem.

Obsah vitamínu A se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A_1 \cdot C \cdot m_2}{A_2 \cdot m_1}$$

v němž značí:

$A_1$  - plochu píku all-(*E*)-retinolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),

$A_2$  - plochu píku all-(*E*)-retinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),

$C$  - koncentraci *retinolacetatu CRL* v mezinárodních jednotkách v gramu, stanovenou metodou uvedenou níže,

$m_1$  - hmotnost zkoušeného přípravku ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech,

$m_2$  - hmotnost *retinolacetatu CRL* v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,

Přesná koncentrace *retinolacetatu CRL* se stanoví pomocí absorpční spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25). 25 mg až 100 mg se naváží s přesností 0,1 %, rozpustí se v 5 ml *pentanu R* a zředí se *2-propanolem R1* na předpokládanou koncentraci 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru.

Ověří se, že absorpční maximum připraveného roztoku je mezi 325 nm a 327 nm, a změří se absorbance při 300 nm, 326 nm, 350 nm a 370 nm. Při každé vlnové délce se provede odečtení několikrát a použijí se průměrné hodnoty. Pro každou vlnovou délku se vypočítá poměr  $A_\lambda/A_{326}$ .

Nepřevyšuje-li tento poměr hodnotu:

- 0,593 při 300 nm,

- 0,537 při 350 nm,

- 0,142 při 370 nm,

vypočítá se obsah vitamínu A v mezinárodních jednotkách v gramu podle vztahu:

$$\frac{A_{326} \cdot V \cdot 1900}{100 \cdot m}$$

v němž značí:

$A_{326}$  - absorbanci při 326 nm,

$m$  - hmotnost CRL v gramech,

$V$  - celkový objem, na který byla CRL naředěna, aby bylo dosaženo koncentrace 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru,

1900 - faktor k převedení specifické absorbance esterů retinolu na mezinárodní jednotky v gramu.

Poměry absorbancí  $A_\lambda/A_{326}$  musí vyhovovat.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných zcela naplněných obalech, chráněn před světlem. Po otevření obalu se jeho obsah použije co nejdříve a nespoteřovaná část obsahu by se měla chránit atmosférou inertního plynu.

Separandum.

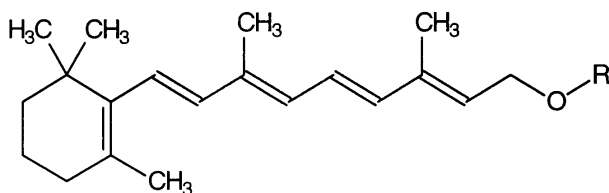
## Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek v gramu,
- název esteru nebo esterů,
- název použité základní pomocné látky nebo látek a název každého přidaného stabilizátoru.

## † Vitaminum A

Vitamin A



R = H	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O	M <sub>r</sub> 286,46	CAS 68-26-8
R = CO-CH <sub>3</sub>	C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	M <sub>r</sub> 328,49	
R = CO-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	M <sub>r</sub> 342,52	
R = CO-C <sub>15</sub> H <sub>31</sub>	C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>2</sub>	M <sub>r</sub> 524,86	

Pod názvem vitamin A je zahrnováno množství látek velmi podobné struktury (včetně (*Z*)-izomerů) nacházejících se v živočišných tkáních a vykazujících podobnou účinnost. Hlavní a biologicky nejúčinnější látkou je all-(*E*)-retinol (all-(*E*)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohexenyl)-2,4,6,8-nonatraen-1-ol<sup>1)</sup>; C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O). Vitamin A se obecně používá ve formě esterů, jako acetat, propionat a palmitat.

Syntetický ester retinolu je ester syntetického retinolu (acetatu, propionatu nebo palmitatu) nebo směsi syntetických esterů retinolu.

Účinnost vitaminu A se vyjadřuje jako retinolové ekvivalenty (R.E.) 1 mg R.E. odpovídá účinnosti 1 mg all-(*E*)-retinolu. Účinnost ostatních esterů retinolu se vypočítá stechiometricky tak, že 1 mg R.E. vitaminu A odpovídá účinnosti:

- 1,147 mg all-(*E*)-retinolacetatu<sup>2)</sup>,
- 1,195 mg all-(*E*)-retinolpropionatu<sup>3)</sup>,
- 1,832 mg all-(*E*)-retinolpalmitatu<sup>4)</sup>.

Lze též použít účinnost v mezinárodních jednotkách (m.j.). 1 m.j. vitaminu A odpovídá účinnosti 0,300 μg all-(*E*)-retinolu. Účinnost ostatních esterů retinolu se vypočítá stechiometricky tak, že 1 m.j. vitaminu A odpovídá účinnosti:

- 0,344 μg all-(*E*)-retinolacetatu,
- 0,359 μg all-(*E*)-retinolpropionatu,
- 0,550 μg all-(*E*)-retinolpalmitatu.

<sup>1)</sup> all-(*E*)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethylcyklohex-1-enyl)nona-2,4,6,8-tetraen-1-ol

<sup>2)</sup> all-(*E*)-retinolacetátu

<sup>3)</sup> all-(*E*)-retinolpropionátu

<sup>4)</sup> all-(*E*)-retinolpalmitátu

1 mg retinolového ekvivalentu odpovídá 3333 m.j.

## Vlastnosti

Retinolacetat se vyskytuje jako světle žluté krystaly (teplota tání asi 60 °C). Táním přechází retinolacetat ve superkritickou směs.

Retinolpropionat se vyskytuje jako červenohnědá olejovitá kapalina.

Retinolpalmitat je podobný tuku, je to světle žlutá pevná hmota, která táním (teplota tání asi 26 °C) přechází na žlutou olejovitou tekutinu.

Všechny estery retinolu jsou prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné nebo částečně rozpustné v ethanolu a mísitelné s organickými rozpouštědly. Vitamin A a jeho estery jsou velmi citlivé na působení vzduchu, oxidačních látek, kyselin, světla a tepla.

*Všechny zkoušky se provádějí, co možná nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem, bez přístupu oxidačních látek a katalyzátorů oxidace (např. měď, železo), kyselin a zahřívání; používají se čerstvě připravené roztoky.*

## Zkoušky totožnosti

**A.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* Připraví se roztok obsahující asi 3,3 m.j. vitaminu A v mikrolitru v cyklohexanu R stabilizovaném butylhydroxytolenem R (1 g/l).

*Porovnávací roztok.* Připraví se porovnávací roztok, obsahující asi 0,01 mg esterů retinolu CRL v mikrolitru (tj. 3,3 m.j. každého esteru v mikrolitru) v cyklohexanu R stabilizovaném butylhydroxytolenem R (1 g/l).

Na vrstvu se nanese po 3  $\mu$ l každého roztoku a ihned se vyvíjí do 2/3 desky směsí objemových dílů etheru R a cyklohexanu R (20 + 80). Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Zkoušku totožnosti lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou jednotlivé skvrny odpovídajících esterů. Pořadí eluce od startu k čelu je: retinolacetat, retinolpropionat a retinolpalmitat. Složení zkoušeného roztoku je srovnatelné s odpovídající hlavní skvrnou nebo skvrnami, které byly získány s porovnávacím roztokem.

**B.** Zkouška Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

## Zkoušky na čistotu

**Retinol.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* Připraví se roztok, obsahující asi 330 m.j. vitaminu A v mikrolitru v cyklohexanu R stabilizovaném butylhydroxytolenem R (1 g/l).

*Porovnávací roztok.* 1 ml zkoušeného roztoku se 2 min třepe s 20 ml tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l v 2-propanolu RS a zředí se cyklohexanem R stabilizovaným butylhydroxytolenem R (1 g/l) na 100 ml.

Na vrstvu se nanese po 3  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se ihned směsí objemových dílů etheru R a cyklohexanu R (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku není ester retinolu nebo jsou jen jeho stopy. Skvrna odpovídající retinolu na chromatogramu zkoušeného roztoku není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (1,0 %).

**Příbuzné látky.** Provede se absorpční spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25). Změří se absorpční maximum roztoku pro Stanovení účinnosti. Roztok vykazuje absorpční maximum při 325 nm až 327 nm. Změří se absorbance při 300 nm, 350 nm a 370 nm. Pro každou vlnovou délku se vypočítá poměr  $A_{\lambda}/A_{326}$ .

Tento poměr nepřevyšuje hodnotu:

- 0,593 při 300 nm,
- 0,537 při 350 nm,
- 0,142 při 370 nm.

## Stanovení účinnosti

Stanovení účinnosti látky se provádí v případě, že se hodnota použije při přípravě koncentrátů. Provede se absorpční spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25). 25 mg až 100 mg se naváží s přesností 0,1 % a rozpustí v 5 ml *pentanu R* a zředí se *2-propanolem R1* na předpokládanou koncentraci 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru. Tento roztok se též použije pro zkoušku Příbuzné látky.

Změří se absorbance v maximu při 326 nm. Účinnost vitamínu A v mezinárodních jednotkách v gramu se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A_{326} \cdot V \cdot 1900}{100 \cdot m},$$

v němž značí:

$A_{326}$  - absorbanci při 326 nm,

$m$  - hmotnost zkoušené látky v gramech,

$V$  - celkový objem, na který byla zkoušená látka naředěna, aby bylo dosaženo koncentrace 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru,

1900 - faktor k převedení specifické absorbance esterů retinolu na mezinárodní jednotky v gramu.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných zcela naplněných obalech, chráněn před světlem. Po otevření obalu se jeho obsah použije co nejdříve a nepotřebovaná část obsahu by se měla chránit atmosférou inertního plynu.

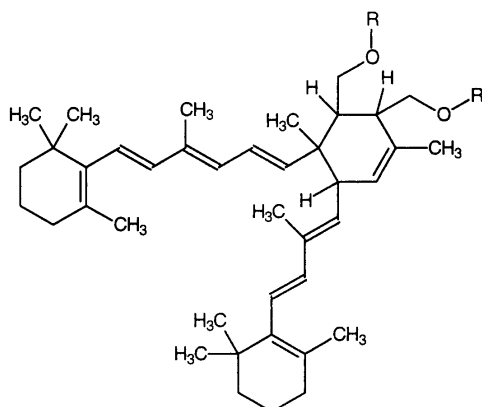
Separandum.

## Označování

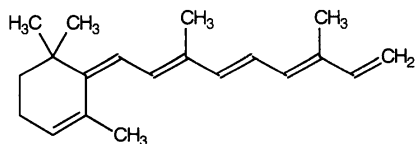
V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek v gramu,
- název esteru nebo esterů.

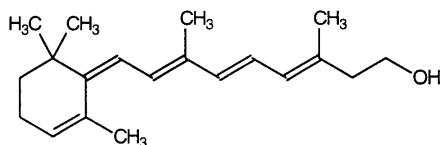
## Nečistoty



A. R = H, CO-CH<sub>3</sub>; kityly (Diels-Alderovy dimery vitamínu A),



B. (3*E*,5*E*,7*E*)-3,7-dimethyl-9-[(1*Z*)-2,6,6-trimethyl-2-cyklohexenyliden]-1,3,5,7-nonatetraen<sup>5)</sup> (anhydro-vitamin A),



C. (3*E*,5*E*,7*E*)-3,7-dimethyl-9-[(1*Z*)-2,6,6-trimethyl-2-cyklohexenyliden]-3,5,7-nonatrien-1-ol<sup>6)</sup> (*retro*-vitamin A),

D. oxidační produkty vitaminu A.

## † Vitaminum A densatum oleosum

Olejový roztok vitaminu A



2001

Je to olejová forma syntetického esteru retinolu (*Vitaminum A*) jako takového, nebo jeho koncentrovaného roztoku ve vhodném rostlinném oleji. Může obsahovat vhodné stabilizátory jako antioxidanty.

Deklarovaný obsah vitaminu A je nejméně 500 000 m.j. v 1 gramu. Obsahuje 95,0 % až 110,0 % obsahu uvedeného v označení na obalu.

### Vlastnosti

Žlutá nebo hnědožlutá olejovitá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný nebo částečně rozpustný v ethanolu, mísitelný s organickými rozpouštědly. Ve velmi koncentrovaných roztocích se může objevit částečná krystalizace.

### Zkouška totožnosti

Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu *F<sub>254</sub>* pro TLC *R*.

*Zkoušený roztok.* Připraví se roztok obsahující asi 3,3 m.j. vitaminu A v mikrolitru v *cyklohexanu R* stabilizovaném *butylhydroxytoluenem R* (1 g/l).

*Porovnávací roztok.* Připraví se porovnávací roztok obsahující asi 0,01 mg esterů *retinolu CRL* v mikrolitru (tj. 3,3 m.j. každého esteru v mikrolitru) v *cyklohexanu R* stabilizovaném *butylhydroxytoluenem R* (1 g/l).

Na vrstvu se nanese po 3  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se ihned směsí objemových dílů *etheru R* a *cyklohexanu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Zkoušku totožnosti lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou jednotlivé skvrny odpovídajících esterů. Pořadí eluce od startu k čelu je: retinolacetat, retinolpropionat a retinolpalmitat. Složení zkoušeného roztoku je srovnatelné s odpovídající hlavní skvrnou nebo skvrnami, které byly získány s porovnávacím roztokem.

### Zkoušky na čistotu

**Číslo kyselosti** (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,0 g zkoušené látky.

<sup>5)</sup> (3*E*,5*E*,7*E*)-3,7-dimethyl-9-[(1*Z*)-2,6,6-trimethylcyklohex-2-enyliden]nona-1,3,5,7-tetraen

<sup>6)</sup> (3*E*,5*E*,7*E*)-3,7-dimethyl-9-[(1*Z*)-2,6,6-trimethylcyklohex-2-enyliden]nona-3,5,7-trien-1-ol



**Číslo peroxidové (2.5.5).** Nejvýše 10,0.

### Stanovení obsahu

*Stanovení obsahu se provede, co možná nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem, bez přístupu oxidačních látek a katalyzátorů oxidace (např. měď, železo), kyselin a dlouhodobějšího zahřívání; používají se čerstvě připravené roztoky. Jestliže se objeví částečná krystalizace, materiál se homogenizuje při teplotě asi 65 °C, ale bez dlouhodobějšího zahřívání.*

*Provede se stanovení obsahu podle metody A. Ukáže-li se toto stanovení jako nevhodné, použije se metoda B.*

**Metoda A.** Provede se absorpční spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25). 25 mg až 100 mg se naváží s přesností 0,1 %, rozpustí v 5 ml *pentanu R* a zředí se *2-propanolem R1* na předpokládanou koncentraci 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru.

Ověří se, že absorpční maximum připraveného roztoku je mezi 325 nm a 327 nm, a změří se absorbance při 300 nm, 326 nm, 350 nm a 370 nm. Při každé vlnové délce se provede odečtení několikrát a použijí se průměrné hodnoty. Pro každou vlnovou délku se vypočítá poměr  $A_\lambda/A_{326}$ .

Nepřevyšuje-li tento poměr hodnotu:

- 0,593 při 300 nm,
- 0,537 při 350 nm,
- 0,142 při 370 nm,

vypočítá se obsah vitamínu A v mezinárodních jednotkách v gramu podle vztahu:

$$\frac{A_{326} \cdot V \cdot 1900}{100 \cdot m},$$

v němž značí:

$A_{326}$  - absorpční při 326 nm,

$m$  - hmotnost zkoušeného přípravku v gramech,

$V$  - celkový objem, na který byl zkoušený přípravek naředěn, aby bylo dosaženo koncentrace 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru,

1900 - faktor k převedení specifické absorbance esterů retinolu na mezinárodní jednotky v gramu.

Jestliže jeden nebo více poměrů  $A_\lambda/A_{326}$  převyšuje dané hodnoty nebo jestliže vlnová délka absorpčního maxima není mezi 325 nm a 327 nm, použije se Metoda B.

**Metoda B.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok (a).* Množství zkoušeného přípravku, odpovídající asi 120 000 m.j. vitamínu A navážené s přesností 0,1 %, se vpraví do 50ml odměrné baňky a ihned se rozpustí v 5 ml *pentanu R*, přidá se 20 mg až 30 mg *butylhydroxytoluenu R* a 20 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l* v *2-propanolu RS*. Mírně se 5 min míchá (doporučuje se ultrazvuková lázeň). Zředí se *2-propanolem R* na 50,0 ml a homogenizuje se opatrně, aby nevznikly vzduchové bubliny.

*Zkoušený roztok (b).* 20 mg až 30 mg *butylhydroxytoluenu R* se vpraví do 50ml odměrné baňky, přidá se 5 ml *2-propanolu R*, 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se *2-propanolem R* na 50,0 ml. Homogenizuje se opatrně, aby nevznikly vzduchové bubliny.

*Porovnávací roztok (a).* Asi 120 mg *retinolacetatu CRL* se naváží s přesností 0,1 %, vpraví se do 50ml odměrné baňky a postupuje se způsobem předepsaným pro zkoušený roztok (a).

*Porovnávací roztok (b).* 20 mg až 30 mg *butylhydroxytoluenu R* se vpraví do 50ml odměrné baňky, přidá se 5 ml *2-propanolu R*, 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se *2-propanolem R* na 50,0 ml. Homogenizuje se opatrně, aby nevznikly vzduchové bubliny.

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  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (5 + 95); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 325 nm,
- injektorové smyčky.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je hlavní pík odpovídající all-(*E*)-retinolu, jehož retenční čas je asi 3 min,
- na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) není pík odpovídající nezmydelnému retinolacetatu při retenčním čase asi 6 min.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (b) tak, aby získaná absorbance při 325 nm byla v rozmezí 0,5 až 1,0 a chromatogram se zaznamená tak, aby výška píku vitamínu A byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Celkem se provede šest takových nástříků. Relativní směrodatná odchylka odezvy porovnávacího roztoku (b) je nejvýše 1 %.

Nastříkne se stejný objem zkoušeného roztoku (b) a chromatogram se zaznamenává stejným způsobem.

Obsah vitamínu A se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A_1 \cdot C \cdot m_2}{A_2 \cdot m_1},$$

v němž značí:

$A_1$  - plochu píku odpovídajícího all-(*E*)-retinolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),

$A_2$  - plochu píku odpovídajícího all-(*E*)-retinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),

$C$  - koncentraci *retinolacetatu* CRL v mezinárodních jednotkách v gramu, stanovenou metodou A; poměry absorbancí  $A_1/A_{326}$  musí vyhovovat,

$m_1$  - hmotnost zkoušeného přípravku ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech,

$m_2$  - hmotnost *retinolacetatu* CRL v porovnávacím roztoku (a) v miligramech.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných zcela naplněných obalech, chráněn před světlem. Po otevření obalu se jeho obsah použije co nejdříve a nepotřebovaná část obsahu by se měla chránit atmosférou inertního plynu.

Separandum.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek v gramu,
- název esteru nebo esterů,
- název přidaných stabilizátorů,
- v případě potřeby postup rozpuštění vzniklých krystalů.

## † Vitaminum A in aqua dispergibile

Vitamin A dispergovatelný ve vodě



Je to koncentrát (solubilizát/emulze) syntetického esteru retinolu (*Vitaminum A*) v tekuté formě (jako rozpouštědlo se obvykle používá voda) s přísadou vhodného solubilizátoru.

Deklarovaný obsah vitamínu A je nejméně 100 000 m.j. v 1 gramu. Obsahuje 95,0 % až 115,0 % obsahu uvedeného v označení na obalu. Může obsahovat vhodné stabilizátory jako protimikrobní přísady a antioxidanty.

### Vlastnosti

Žlutá nebo nažloutlá kapalina proměnlivé opalescence a viskozity. Vysoce koncentrované roztoky se při nízkých teplotách mohou kalit nebo přecházet v gel.

Směs 1 g s 10 ml *vody R* předem zahřáté na 50 °C dává po ochlazení na 20 °C stejnorodou slabě opalizující slabě žlutou disperzi.

## Zkouška totožnosti

Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

**Zkoušený roztok.** Do 20ml zkumavky se zabroušenou zátkou se vpraví množství zkoušeného přípravku odpovídající asi 17 000 m.j. vitamínu A. Přidá se 5 ml 2-propanolu R stabilizovaného butylhydroxytoluenem R (1 g/l) a silně se promíchá.

**Porovnávací roztok.** Připraví se porovnávací roztok obsahující asi 0,01 mg esterů retinolu CRL v mikrolitru (tj. 3,3 m.j. každého esteru v mikrolitru) v 2-propanolu R stabilizovaném butylhydroxytoluenem R (1 g/l).

Na vrstvu se nanese po 3  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se ihned směsí objemových dílů etheru R a cyklohexanu R (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Zkoušku totožnosti lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou jednotlivé skvrny odpovídajících esterů. Pořadí eluce od startu k čelu je: retinolacetat, retinolpropionat a retinolpalmitat. Složení zkoušeného roztoku je srovnatelné s odpovídající hlavní skvrnou nebo skvrnami, které byly získány s porovnávacím roztokem.

## Stanovení obsahu

Stanovení obsahu se provede, co možná nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem, bez přístupu oxidačních látek a katalyzátorů oxidace (např. měď, železo), kyselin a dlouhodobějšího zahřívání.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok (a).** Množství zkoušeného přípravku, odpovídající asi 120 000 m.j. vitamínu A navážené s přesností 0,1 %, se vpraví do 50ml odměrné baňky a ihned se rozpustí v 5 ml 2-propanolu R, přidá se 20 mg až 30 mg butylhydroxytoluenu R a 20 ml tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l v 2-propanolu RS. Mírně se míchá 5 min (doporučuje se ultrazvuková lázeň). Zředí se 2-propanolem R na 50,0 ml a homogenizuje se opatrně, aby nevznikly vzduchové bubliny.

**Zkoušený roztok (b).** 20 mg až 30 mg butylhydroxytoluenu R se vpraví do 50ml odměrné baňky, přidá se 5 ml 2-propanolu R, 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se 2-propanolem R na 50,0 ml. Homogenizuje se opatrně, aby nevznikly vzduchové bubliny.

**Porovnávací roztok (a).** Asi 120 mg retinolacetatu CRL naváženého s přesností 0,1 % se vpraví do 50ml odměrné baňky a postupuje se způsobem předepsaným pro zkoušený roztok (a).

**Porovnávací roztok (b).** 20 mg až 30 mg butylhydroxytoluenu R se vpraví do 50ml odměrné baňky, přidá se 5 ml 2-propanolu R, 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se 2-propanolem R na 50,0 ml. Homogenizuje se opatrně, aby nevznikly vzduchové bubliny.

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  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů vody R a methanolu R (5 + 95); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 325 nm,
- injektorové smyčky.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je hlavní pík odpovídající all-(E)-retinolu, jehož retenční čas je asi 3 min,
- na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) není pík odpovídající nezmýdelněnému retinolacetatu, při retenčním čase asi 6 min.

Nastříkne se vhodný objem porovnávacího roztoku (b) tak, aby získaná absorbance při 325 nm byla v rozmezí 0,5 až 1,0 a chromatogram se zaznamená tak, aby výška píku vitamínu A byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Celkem se provede šest takových nástříků. Relativní směrodatná odchylka odezvy porovnávacího roztoku (b) je nejvýše 1 %.

Nastříkne se stejný objem zkoušeného roztoku (b) a chromatogram se zaznamenává stejným způsobem.

Obsah vitamínu A se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A_1 \cdot C \cdot m_2}{A_2 \cdot m_1},$$

v němž značí:

$A_1$  - plochu píku all-(E)-retinolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),

- $A_2$  - plochu píku all-(*E*)-retinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),  
 $C$  - koncentraci *retinolacetatu* CRL v mezinárodních jednotkách v gramu, stanovenou metodou uvedenou níže,  
 $m_1$  - hmotnost zkoušeného přípravku ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech,  
 $m_2$  - hmotnost *retinolacetatu* CRL v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,

Přesná koncentrace *retinolacetatu* CRL se stanoví pomocí absorpční spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25). 25 mg až 100 mg se naváží s přesností 0,1 %, rozpustí se v 5 ml *pentanu R* a zředí se *2-propanolem R1* na předpokládanou koncentraci 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru.

Ověří se, že absorpční maximum připraveného roztoku je mezi 325 nm a 327 nm, a změří se absorbance při 300 nm, 326 nm, 350 nm a 370 nm. Při každé vlnové délce se provede odečtení několikrát a použijí se průměrné hodnoty. Pro každou vlnovou délku se vypočítá poměr  $A_\lambda/A_{326}$ .

Nepřevyšuje-li tento poměr hodnotu:

- 0,593 při 300 nm,
- 0,537 při 350 nm,
- 0,142 při 370 nm,

vypočítá se obsah vitamínu A v mezinárodních jednotkách v gramu podle vztahu:

$$\frac{A_{326} \cdot V \cdot 1900}{100 \cdot m},$$

v němž značí:

- $A_{326}$  - absorbanci při 326 nm,  
 $m$  - hmotnost CRL v gramech,  
 $V$  - celkový objem, na který byla CRL naředěna, aby bylo dosaženo koncentrace 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru,  
1900 - faktor k převedení specifické absorbance esterů retinolu na mezinárodní jednotky v gramu.

Poměry absorbancí  $A_\lambda/A_{326}$  musí vyhovovat.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě uvedené v označení na obalu.

Po otevření obalu se jeho obsah použije co nejdříve a nespotebovaná část obsahu by se měla chránit atmosférou inertního plynu.

Separandum.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

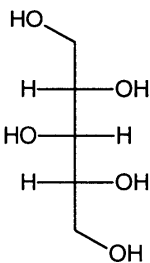
- počet mezinárodních jednotek v gramu,
- název esteru nebo esterů,
- název použitého solubilizátoru nebo solubilizátorů a názvy přidaných stabilizátorů,
- teplota uchovávání.

199. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Xylitolum zní:

”

## Xylitolum

Xylitol



$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_5$

$M_r$  152,15

CAS 87-99-0

Je to *meso*-xylitol. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_5$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a mírně rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 92 °C až 96 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *xylitolu CRL*.

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

*Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 5,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25 mg *xylitolu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 5,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 25 mg *mannitolu CRL* a 25 mg *xylitolu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 5 ml.

Na vrstvu se nanese po 2  $\mu\text{l}$  každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *ethylacetatu R* a *1-propanolu R* (10 + 20 + 70) po dráze 17 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *kyselinou 4-aminobenzoovou RS*, usuší se v proudu studeného vzduchu do vymizení pachu acetonu a zahřívá se 15 min při 100 °C. Vrstva se nechá ochladit, postříká se roztokem *jodistanu sodného R* (2 g/l), usuší se v proudu studeného vzduchu a zahřívá se 15 min při 100 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou, zbarvením a velikostí odpovídá 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.** 2,5 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml. Tento roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze IV (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>7</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Měrná vodivost** (2.2.38). Nejvýše 20  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ . 20,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* připravené z *vody destilované R*, zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml a měří se vodivost tohoto roztoku za mírného míchání magnetickým míchadlem při teplotě 20 °C.

**Redukující cukry.** 5,0 g se rozpustí mírným zahřátím v 6 ml vody R. Po ochlazení se přidá 20 ml *citronanu měďnatého* RS a několik skleněných kuliček. Zahřívá se tak, aby k varu došlo za 4 min a nechá se 3 min vařit. Rychle se ochladí a přidá 100 ml roztoku *kyseliny octové ledové* R 2,4% (V/V) a 20,0 ml *jodu* 0,025 mol/l VS. Za stálého třepání se přidá 25 ml směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové* R a *vody* R (6 + 94) a po rozpuštění sraženiny se titruje přebytek jodu *thiosíranem sodným* 0,05 mol/l VS za použití 1 ml *škrobu* RS jako indikátoru, který se přidá před koncem titrace. Spotřebuje se nejvýše 12,8 ml *thiosíranu sodného* 0,05 mol/l VS (0,2 %, počítáno jako glukosový ekvivalent).

**Příbuzné látky.** Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) způsobem uvedeným v odstavci Stanovení obsahu.

Součet obsahů příbuzných látek v procentech na chromatogramu zkoušeného roztoku není větší než 2,0 %.

**Olovo** (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5 µg/g). Zkoušená látka se rozpustí ve 150,0 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Nikl** (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce na nikl v polyolech (1 µg/g). Zkoušená látka se rozpustí ve 150,0 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 4 m.j. endotoxinu v gramu pro parenterální přípravky obsahující méně než 100 g/l xylitolu a nejvýše 2,5 m.j. endotoxinu v gramu pro parenterální přípravky obsahující 100 g/l nebo více xylitolu.

## Stanovení obsahu

Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití erytritolu jako vnitřního standardu.

*Roztok vnitřního standardu.* 5 mg erytritolu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 25,0 ml.

*Zkoušený roztok.* 5,000 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok.* Ve vodě R se rozpustí po 25,0 mg *L-arabinitolu* CRL, *galaktitolu* CRL, *mannitolu* CRL a *sorbitolu* CRL a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá asi 490 mg přesně zváženého xylitolu CRL tak, aby porovnávací roztok obsahoval známou koncentraci xylitolu CRL, asi 49 mg/ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné kyselinou promytou *křemelinou silanizovanou pro plynovou chromatografii* R (150 µm až 180 µm) impregnovanou 3 % *poly[(kyanpropyl)(methyl)][(fenyl)(methyl)siloxanem* R,
- *dusíku* R jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se 1 min udržuje na 170 °C, pak se zvyšuje rychlostí 6 °C/min na 200 °C a teplota nástříkového prostoru a detektoru se udržuje na 250 °C.

Do dvou baněk s kulatým dnem na 100 ml se odpipetuje odděleně po 1,0 ml porovnávacího roztoku a zkoušeného roztoku. Do každé baňky se přidá 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a příslušné směsi se odpaří do sucha ve vodní lázni při teplotě 60 °C pomocí rotační odparky. Každý zbytek se po odpaření rozpustí v 1 ml *pyridinu bezvodého* R, do každé baňky se přidá se po 1 ml *acetanhydridu* R a roztoky se vaří 1 h pod zpětným chladičem do úplné acetylace.

Nastříkne se odděleně po 1 µl roztoku získaného z porovnávacího roztoku a ze zkoušeného roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek relativní retenční časy vztažené ke xylitolu jsou: erytritol asi 0,3; arabinitol asi 0,7; mannitol asi 1,8; galaktitol asi 2,0; sorbitol asi 2,2.

Obsah C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>O<sub>5</sub> ve zkoušené látce v procentech se vypočítá z deklarovaného obsahu xylitolu CRL a z obsahu každé příbuzné látky podle vztahu:

$$100 \cdot \frac{m_s}{m_u} \cdot \frac{R_u}{R_s},$$

v němž značí:

$m_s$  - hmotnost příslušné složky v 1 ml porovnávacího roztoku v miligramech,

$m_u$  - hmotnost zkoušené látky v 1 ml zkoušeného roztoku v miligramech,

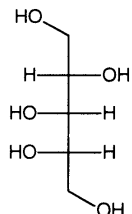
$R_s$  - poměr plochy píku derivatizované složky k ploše píku derivatizovaného erytritolu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$R_u$  - poměr plochy píku derivatizované složky k ploše píku derivatizovaného erytritolu na chromatogramu zkoušeného roztoku.

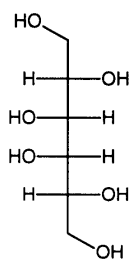
**Označování**

V označení na obalu se uvede:

- kde je to vhodné, nejvyšší koncentrace bakteriálního endotoxinu,
- kde je to vhodné, zda je látka vhodná pro výrobu parenterálních lékových forem.

**Nečistoty**

A. L-arabinitol (arabitol),



B. *meso*-galaktitol,

C. mannitol,

D. sorbitol (D-glucitol).

“

200. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Zinci undecylenas doplňuje článek Zingiberis rhizoma, který zní:

”

**Zingiberis rhizoma**

Oddenek zázvoru

*Synonyma.* Rhizoma zingiberis, Radix zingiberis



2001

Je to celý nebo řezaný usušený oddenek druhu *Zingiber officinale* ROSCOE, zbavený úplně nebo z větší části korku. Obsahuje nejméně 15 ml silice v 1 kilogramu řezané nebo neřezané drogy, počítáno na sušinu.

## Vlastnosti

Droga má charakteristický aromatický pach a kořenitou pálivou chuť.  
Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

## Zkoušky totožnosti

- A.** Oddenek ze stran zploštělý, nahoře s krátkými plochými oválnými výběžky, každý často na horním konci s jizvou; celý oddenek je asi 5 cm až 10 cm dlouhý, 1,5 cm až 3 cm nebo 4 cm široký a 1 cm až 1,5 cm silný, často podélně rozštěpený. Loupaný oddenek je na svrchní straně světle hnědý, podélně rýhovaný, někdy vláknitý; zevní strana neloupaného oddenku je světle až tmavě hnědá, více nebo méně pokrytá korkem, se sbíhavými, úzkými, podélnými a příčnými rýhami; korek je odstraněn z bočních stran, mezi jednotlivými výběžky zůstává. Droga je na lomu krátká, škrobnatá, s vyčnívajícím vláknem. Na hladkém příčném řezu je patrná úzká kůra oddělená endodermis od široké dřene; četné roztroušené svazky cévní a hojné roztroušené pryskyřičné buňky se žlutým obsahem. U neloupaného oddenku je patrná ještě zevní vrstva tmavě hnědého korku.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je světle žlutý až nahnědlý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: velká tenkostěnná komůrková vlákna, jedna ze stěn buňky bývá často zubatá; velké síťovitě ztlustlé cévy, často provázené úzkými tenkostěnnými buňkami, obsahujícími hnědé barvivo; množství tenkostěnného parenchymu dřene, některé buňky parenchymu obsahují hnědou oleopryskyřici; úlomky hnědého korku, obvykle patrné v plošném pohledu. Při pozorování v *glycerolu R 50% (V/V)* jsou patrná četná škrobová zrna, jednoduchá, zploštělá, oválná až vejčitá nebo nepravidelná, až asi 50 μm dlouhá a 25 μm široká, na jejich užším konci je malé hilum; škrobová zrna jsou někdy nezřetelně příčně vrstevnatá.
- C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.  
*Zkoušený roztok.* 1,0 g práškové drogy (710) se smíchá s 5 ml *methanolu R*. Protřepává se 15 min a pak se zfiltruje.  
*Porovnávací roztok.* 10 μl *citralu R* a 10 mg *resorcinolu R* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*. Roztok se připraví bezprostředně před použitím.  
Na vrstvu se nanese do pruhů po 20 μl obou roztoků a vyvíjí se v nenasyčené komoře směsí objemových dílů *hexanu R* a *etheru R* (40 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu. Postříká se roztokem *vanilínu R* (10 g/l) v *kyselině sírové R*, zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní polovině intenzivní červená skvrna (resorcinol) a v horní polovině dvě fialové skvrny (citral). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě intenzivní fialové skvrny (gingeroly) v poloze nižší, než je skvrna odpovídající resorcinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku a dvě jiné méně intenzivní fialové skvrny (šogaoly) umístěné ve střední části v poloze vymezené skvrnou resorcinolu a skvrnami citralu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomny další skvrny.

## Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi** (2.8.2). Vyhovuje zkoušce Cizí příměsi.

**Voda**, stanovení destilací (2.2.13). Nejvýše 10,0 %; stanoví se s 20,0 g práškové drogy (710).

**Celkový popel** (2.4.16). Nejvýše 6,0 %.

## Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 20,0 g hrubě práškové drogy, rozdrobněné bezprostředně před stanovením, se destiluje 4 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min v 1000ml baňce s kulatým dnem s 10 kapkami *parafinu tekutého R*, nebo jiné vhodné protipěnové přísady a 500 ml *vody R* jako destilační kapaliny. Do dělené zkumavky se přidá 0,5 ml *xylenu R*.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.



201. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky se na začátek kapitoly 6.2.1 Obecné články lékových forem doplňují Poznámky, které znějí:

”

---

## POZNÁMKY



*Následující úvodní text přináší definice a/nebo vysvětlení názvů, které se mohou vyskytovat v obecných člancích lékových forem nebo jsou používány ve vztahu k nim, ale nejsou jimi definovány. Kde je to možné, jsou uvedeny i ekvivalentní názvy, které se mohou vyskytovat i v jiných publikacích nebo kontextech.*

*Tyto poznámky jsou uvedeny pro informaci.*

### **Standardní názvy - Standard Terms**

Standardní názvy jsou názvy lékových forem léčivých přípravků, cest podání a obalů stanovené Evropskou lékopisnou komisí a vydané ve zvláštní publikaci nazvané List of Standard Terms 2000, v ČR vydané ve Věstníku SÚKL č. 3/2000 jako UST-4 Standardní názvy lékových forem, způsobu podání a obalů.

### **Léčivá látka (oficiální definice je dána zákonem č. 79/1997 Sb. ve znění zákona č. 149/2000 Sb.) - Active substance**

Léčivá látka je ta složka léčivého přípravku, která je farmakologicky aktivní nebo má jiný přímý účinek využitelný při diagnóze, léčení nebo prevenci nemoci nebo ovlivňuje stavbu nebo fyziologické funkce lidského nebo zvířecího těla. Léčivý přípravek může obsahovat více než jednu léčivou látku.

Ekvivalentní názvy: aktivní složka, účinná látka, léčivo.

### **Pomocná látka (oficiální definice je dána zákonem č. 79/1997 Sb. ve znění zákona č. 149/2000 Sb.) - Excipient**

Pomocná látka je jiná látka než léčivá látka přítomná v léčivém přípravku nebo je použita při jeho výrobě. Pomocné látky plní úlohu nosiče (vehikulum nebo základ) nebo jako složky nosiče léčivé látky ovlivňují vlastnosti léčivého přípravku, jako je stabilita, biofarmaceutický profil, vzhled, snášenlivost pacientem a usnadňují nebo umožňují výrobu léčivých přípravků. Obvykle je ve složení léčivého přípravku použito více pomocných látek.

Ekvivalentní název: excipiens.

### **Vehikulum - Vehicle**

Vehikulum je nosič léčivé látky (léčivých látek) v tekutém léčivém přípravku, složený z jedné nebo více pomocných látek.

### **Základ - Basis**

Základ je nosič léčivé látky (léčivých látek) v polotuhém nebo pevném léčivém přípravku, složený z jedné nebo více pomocných látek.

**Lékové formy s neřízeným uvolňováním - Conventional-release dosage forms**

Lékové formy s neřízeným uvolňováním jsou léčivé přípravky, které nemají záměrně upravené uvolňování léčivé látky (léčivých látek) zvláštním složením a/nebo výrobními postupy. V případě pevných lékových forem závisí disoluční profil léčivé látky hlavně na jejich vnitřních vlastnostech.

Ekvivalentní termín: lékové formy s normálním uvolňováním.

**Lékové formy s řízeným uvolňováním - Modified-release dosage forms**

Lékové formy s řízeným uvolňováním jsou léčivé přípravky, kde rychlost a/nebo místo uvolňování léčivé látky (léčivých látek), jsou odlišné od lékové formy s neřízeným uvolňováním při podání stejným způsobem. Tohoto záměru je dosaženo speciální úpravou složení a/nebo výrobních postupů. Lékové formy s řízeným uvolňováním zahrnují lékové formy s prodlouženým uvolňováním, lékové formy se zpožděným uvolňováním a lékové formy s pulzním uvolňováním.

**Lékové formy s prodlouženým uvolňováním - Prolonged-release dosage forms**

Lékové formy s prodlouženým uvolňováním jsou léčivé přípravky, které uvolňují léčivou látku (léčivé látky) pomaleji než lékové formy s neřízeným uvolňováním při podání stejným způsobem. Tohoto záměru je dosaženo speciální úpravou složení a/nebo výrobních postupů.

Ekvivalentní termín: lékové formy se zpomaleným uvolňováním.

**Lékové formy se zpožděným uvolňováním - Delayed-release dosage forms**

Lékové formy se zpožděným uvolňováním jsou léčivé přípravky, které uvolňují léčivou látku (léčivé látky) později než lékové formy s neřízeným uvolňováním při podání stejným způsobem. Tohoto záměru je dosaženo speciální úpravou složení a/nebo výrobních postupů. Lékové formy se zpožděným uvolňováním zahrnují enterosolventní (acidorezistentní) léčivé přípravky, které jsou definované v obecných člancích pevných perorálních lékových forem.

**Lékové formy s pulzním uvolňováním - Pulsatile-release dosage forms**

Lékové formy s pulzním uvolňováním jsou léčivé přípravky vykazující uvolňování léčivé látky (léčivých látek) po částech. Tohoto záměru je dosaženo speciální úpravou složení a/nebo výrobních postupů.

**Velkoobjemové parenterální přípravky - Large-volume parenterals**

Infuze a injekce v obalech s nominální hodnotou objemu větší než 100 ml.

**Maloobjemové parenterální přípravky - Small-volume parenterals**

Infuze a injekce v obalech s nominální hodnotou objemu rovnou nebo menší než 100 ml.

202. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, články Auricularia a Capsulae znějí:

”

## Auricularia

### Ušní přípravky



Jsou to tekuté, polotuhé nebo tuhé přípravky určené pro vkapávání, rozprašování, insuflaci a aplikaci do zevního zvukovodu nebo k ušnímu výplachu.

Ušní přípravky obvykle obsahují jednu nebo více léčivých látek ve vhodném vehikulu. Mohou obsahovat pomocné látky, např. k úpravě osmotického tlaku nebo viskozity, úpravě nebo stabilizaci hodnoty pH, ke zvýšení rozpustnosti účinných látek, stabilizaci přípravku nebo k zajištění odpovídajících protimikrobních vlastností. Tyto pomocné látky neovlivňují nepříznivě léčebný účinek přípravku a v používaných koncentracích nejsou příčinou toxicity nebo přílišné místní dráždivosti.

Přípravky pro aplikaci do poškozeného ucha, obzvláště pokud je perforován ušní bubínek nebo jsou-li aplikovány před chirurgickým zákrokem, jsou sterilní, bez protimikrobních přísad a jsou dodávány v jednodávkových obalech.

Ušní přípravky jsou dodávány ve vícedávkových nebo jednodávkových obalech, opatřených, je-li to nezbytné, vhodným zařízením, které může být konstruováno tak, aby se zabránilo vstupu kontaminantů.

Pokud není předepsáno a schváleno jinak, vodné ušní přípravky dodávané ve vícedávkových obalech obsahují vhodné protimikrobní přísady ve vhodné koncentraci, kromě případu, kdy samotný přípravek má přiměřené protimikrobní vlastnosti.

Obaly pro ušní přípravky obvykle vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Rozlišuje se několik druhů ušních přípravků:

- ušní kapky a spreje,
- polotuhé ušní přípravky,
- zásypy do ucha,
- ušní omývadla,
- ušní tampony s léčivou.

### Výroba

Při vývoji ušního přípravku obsahujícího protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady k uspokojení oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení spolu s kritérii pro posouzení ochranných vlastností v daném složení přípravku je popsána ve statí Účinnost protimikrobních látek (5.1.3).

Při výrobě, balení, skladování a distribuci ušních přípravků je vhodným způsobem zajištěna jejich mikrobiální čistota; odpovídající doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

Sterilní ušní přípravky jsou vyráběny za použití materiálů a metod určených k zajištění sterility a zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; odpovídající doporučení jsou ve statí Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1).

Při výrobě ušních přípravků obsahujících dispergované částice se používají měření k zajištění vhodné a kontrolované velikosti částic pro určené použití.

### Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li stanoveno jinak, jednodávkové ušní přípravky s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo menším než 2 % celkového obsahu vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Jednodávkové ušní přípravky vyhovují zkoušce. Je-li zkouška pro obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny účinné látky, nevyžaduje se zkouška hmotnostní stejnoměrnosti.

**Sterilita (2.6.1).** Je-li přípravek označen jako sterilní, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

### **Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech. Je-li přípravek sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

### **Označování**

V označení na obalu se uvede:

- názvy všech protimikrobních přísad,
- kde je to vhodné, zda je přípravek sterilní,
- u vícedávkových obalů doba po otevření obalu, po které již nesmí být obsah použit. Není-li stanoveno jinak, nesmí tato doba překročit 4 týdny.

## **Otoguttae, Praeparata auricularia pro aerodispersione**

Ušní kapky, ušní spreje

*Synonyma.* Kapky do ucha, Aerodispersiones auriculares

Jsou to roztoky, emulze nebo suspenze jedné nebo více léčivých látek v kapalině (např. ve vodě, v glykolech nebo v olejích) vhodné k aplikaci do zevního zvukovodu, bez nežádoucího tlaku na ušní bubínek. Mohou být aplikovány do zvukovodu také jako tekutinou napuštěný tampon.

Emulze mohou vykazovat oddělování fází, ale jsou protřepáním znovu snadno redispersgovány. Suspenze mohou obsahovat sediment, který lze snadno protřepáním rozptýlit; takto vzniklá suspenze je natolik stabilní, aby umožňovala podání správné dávky.

Ušní kapky jsou obvykle dodávány ve vícedávkových obalech skleněných nebo vhodných plastových, které jsou opatřeny integrovaným kapátkem nebo šroubovacím uzávěrem z vhodných materiálů s kapátkem a gumovým nebo plastovým krytem. Takovýto kompletní uzávěr může být rovněž dodán odděleně. Spreje jsou obvykle dodávány ve vícedávkových obalech opatřených vhodným aplikátorem. Pokud jsou spreje dodávány v tlakových obalech, vyhovují požadavkům článku *Praeparata pharmaceutica in vasis cum pressu*.

## **Auricularia semisolida**

Polotuhé ušní přípravky

Jsou určeny k aplikaci do zevního zvukovodu, v případě potřeby jako tampon napuštěný přípravkem.

Polotuhé ušní přípravky vyhovují požadavkům uvedeným v článku *Unguenta*.

Jsou dodávány v obalech doplněných vhodným aplikátorem.

## **Pulveres auriculares**

Zásypy do ucha

*Synonymum.* Prášky do ucha

Vyhovují požadavkům článku *Pulveres adspersorii*.

Jsou dodávány v obalech s vhodným zařízením umožňujícím aplikaci nebo insuflaci.

## Lotiones auriculares

Ušní omývadla

Jsou to přípravky určené k očištění zevního zvukovodu, obvykle jako vodné roztoky s hodnotou pH ve fyziologickém rozmezí.

### Zkoušení

**Využitelná hmotnost nebo objem (2.9.28).** Ušní vody dodané v jednodávkovém obalu vyhovují zkoušce.

## Ototampona medicata

Ušní tampony s léčivý

Jsou určeny k aplikaci do zevního zvukovodu. Vyhovují požadavkům článku *Tampona medicata*.

---

## Capsulae

Tobolky

*Synonymum.* Kapsle



2001

*Požadavky tohoto článku se netýkají nutně tobolek určených pro jiné než perorální podání. Požadavky vztahující se na tyto přípravky lze nalézt v jiných člancích, např. Rectalia a Vaginalia.*

Jsou to tuhé přípravky s tvrdými nebo měkkými obaly různých tvarů a velikostí, obvykle obsahující jednu dávku léčivé látky. Jsou určeny pro perorální podání.

Obaly tobolek jsou vyráběny z želatiny nebo jiných látek, jejich konzistence se může upravovat přidávkem glycerolu nebo sorbitolu a podobných látek. Lze používat pomocné látky, jako jsou povrchově aktivní látky, opakní přísady, protimikrobní látky, sladidla, barviva schválená oprávněnou autoritou a chuťové a aromatické přísady. Tobolky mohou být na povrchu označené.

Obsah tobolek může mít tuhou, tekutou nebo polotuhou konzistenci. Obsahují jednu nebo více léčivých látek s pomocnými látkami (nebo bez nich), jako jsou rozpouštědla, plniva, látky kluzné a rozvolňovač. Obsah tobolek nezpůsobuje narušení obalu. Obal tobolek je však narušován trávicími šťávami, přičemž se uvolní obsah tobolek.

Obaly pro tobolky obvykle vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Rozlišuje se několik druhů tobolek:

- tvrdé tobolky,
- měkké tobolky,
- enterosolventní tobolky,
- tobolky s řízeným uvolňováním,
- škrobové tobolky.

### Výroba

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci tobolek se používá vhodných způsobů k zajištění jejich mikrobiální čistoty; příslušná doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

### Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, tobolky s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo nižším než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových

lékových forem. Obsahuje-li přípravek více účinných látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Tobolky vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené účinné látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

**Disoluce.** Použije se jedna ze zkoušek ve stati Zkouška disoluce pevných jednodávkových lékových forem (2.9.3).

Je-li předepsána zkouška disoluce, neprovádí se zkouška rozpadavosti.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, při teplotě nepřesahující 30 °C.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- název jednotlivých protimikrobních přísad.

## Capsulae durae

### Tvrdé tobolky

Obal tvrdých tobolek se skládá ze dvou předem vyrobených válcovitých částí, jejichž jeden konec je zakulacený a uzavřený, druhý je otevřený.

### Výroba

Léčivá látka (látky), obvykle v tuhé formě (prášky nebo granuláty), je naplněna do jedné části obalu, který se uzavře nasazením víčkové části. Pevnost uzávěru může být zvýšena vhodnými prostředky.

### Zkoušení

**Rozpadavost.** Tvrdé tobolky vyhovují zkoušce rozpadavosti tablet a tobolek (2.9.1). Použije se *voda R* jako tekutina. Je-li předepsáno a schváleno, použije se místo vody *kyselina chlorovodíková 0,1 mol/l RS* nebo *žaludeční šťáva umělá R* jako tekuté prostředí. Jestliže tobolky plavou na hladině, lze přidat disky. Není-li předepsáno a schváleno jinak, přístroj pracuje 30 min a pak se hodnotí stav tobolek. Tobolky vyhovují zkoušce, jestliže se rozpadlo všech šest tobolek.

## Capsulae molles

### Měkké tobolky

Obal měkkých tobolek je silnější než u tvrdých tobolek. Obaly jsou tvořeny jednou částí a mají různé tvary.

### Výroba

Měkké tobolky se obvykle formují, plní a uzavírají v jednom pracovním procesu, ale pro použití *ex tempore* může být obal vyroben předem. Léčivá látka může být součástí materiálu obalu.

Kapaliny mohou být uzavřeny přímo. Tuhé látky jsou obvykle rozpuštěny nebo dispergovány ve vhodné pomocné látce, takže tvoří roztok nebo disperzi pastovité konzistence.

Vzhledem k vlastnostem materiálů a kontaktních povrchů může docházet k částečné migraci složek z obsahu tobolky do obalu a naopak.

## Zkoušení

**Rozpadavost.** Měkké tobolky vyhovují zkoušce rozpadavosti tablet a tobolek (2.9.1). Použije se *voda R* jako tekutina. Je-li předepsáno a schváleno, použije se místo vody *kyselina chlorovodíková 0,1 mol/l RS* nebo *žaludeční šťáva umělá R* jako tekuté prostředí. Do trubic se přidají disky. Tekuté léčivé látky, nacházející se v tobolkách mohou narušovat disk. Za těchto okolností, a je-li schváleno, se disk nepoužije. Není-li předepsáno a schváleno jinak, přístroj pracuje 30 min a pak se hodnotí stav tobolek. Jestliže se při zkoušce tobolky přilepily k diskům, zkoušku nelze hodnotit, opakuje se zkouška s dalšími šesti tobolkami bez použití disků. Tobolky vyhovují zkoušce, jestliže se rozpadlo všech šest tobolek.

## Capsulae cum liberatione modificata

Tobolky s řízeným uvolňováním

*Synonymum.* Tobolky s modifikovanou liberací

Jsou to tvrdé nebo měkké tobolky, jejichž obsah nebo obal, nebo obojí obsahují vybrané pomocné látky, anebo jsou vyrobeny zvláštním postupem umožňujícím řídit rychlost, místo nebo čas uvolňování léčivé látky (látek).

Tobolky s řízeným uvolňováním zahrnují tobolky s prodlouženým uvolňováním a tobolky se zpožděným uvolňováním.

## Výroba

Použije se vhodná zkouška k prokázání příslušného uvolňování léčivé látky (látek).

## Capsulae enterosolventes

Enterosolventní tobolky

*Synonymum.* Acidorezistentní tobolky

Je to zvláštní druh přípravků se zpožděným uvolňováním. Odolávají působení žaludeční šťávy a uvolňují léčivou látku (látky) ve střevní šťávě. Obvykle se připravují naplněním tobolek zrněnými prášky nebo částicemi s enterosolventním obalem, v určitých případech se mohou připravit z tvrdých nebo měkkých tobolek s enterosolventním obalem.

## Výroba

Použije se vhodná zkouška k prokázání příslušného uvolňování léčivé látky (látek) z tobolek naplněných zrněnými prášky nebo částicemi s enterosolventním obalem.

## Zkoušení

**Rozpadavost.** U tobolek s enterosolventním obalem se provádí zkouška rozpadavosti (2.9.1) v následujícím provedení. Jako tekutina se použije *kyselina chlorovodíková 0,1 mol/l RS*. Přístroj se nechá pracovat bez disků 2 h nebo předepsanou a schválenou dobu a hodnotí se stav tobolek. Doba rezistence vůči kyselému prostředí se mění podle složení zkoušených tobolek. Obvykle jsou to 2 h až 3 h, ale i při schválení odchylky není menší než 1 h. Žádná z tobolek nevykazuje známky rozpadu nebo trhliny dovolující únik obsahu. Kyselina se nahradí *tlumivým roztokem fosforečnanovým o pH 6,8* a do každé trubice se přidá disk. Je-li předepsáno a schváleno, použije se *tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,8* s přídatkem pankreatického prášku (např. 0,35 g *pankreatického prášku* ve 100 ml *tlumivého roztoku*). Přístroj pracuje 60 min a hodnotí se stav tobolek. Jestliže se při zkoušce tobolky přilepily k diskům, zkoušku nelze hodnotit, opakuje se zkouška s dalšími šesti tobolkami bez disků. Tobolky vyhovují zkoušce, jestliže se rozpadlo všech šest tobolek.

**Disoluce.** K určení příslušného uvolňování léčivé látky z tobolek, které byly vyrobeny z granulí nebo částic již potažených enterosolventním obalem, se použije vhodná zkouška, např. popsaná ve Zkoušce disoluce pevných lékových forem (2.9.3).

## Capsulae amylaceae

Škrobové tobolky

*Synonymum.* Cachety

Jsou to pevné přípravky s tvrdým obalem, obsahující jednu dávku jedné nebo více účinných látek. Obal škrobových tobolek je tvořen oplátkami, obvykle připravenými z rýžové mouky a skládá se ze dvou předem vyrobených mělkých válcovitých částí. Před použitím se tobolky vloží na několik sekund do vody, pak se dají na jazyk a spolknou se s douškem vody.

### Označování

V označení na obalu se uvede způsob podání.

“

203. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, článek Emplastra transcutanea zní:

”

## Emplastra transcutanea

Transdermální náplasti



2001

Jsou to pružné farmaceutické přípravky různých velikostí, obsahující jednu nebo více léčivých látek. Jsou určeny k aplikaci na neporušenou pokožku. Z transdermální náplasti uvolněné léčivé látky se po přechodu kožní bariérou dostávají do systémového oběhu.

Transdermální náplasti se obvykle skládají z vnější krycí vrstvy, zásobníku s léčivou látkou (látkami) a ochranné odstranitelné vrstvy, která se před aplikací transdermální náplasti odstraní.

Krycí vrstva je nepropustná pro léčivou látku (látky) a obvykle i pro vodu a je nosičem i ochranou pro přípravek. Tato vrstva může mít stejný nebo větší rozměr než zásobník s léčivou látkou. Ve druhém případě je přesahující okraj krycí vrstvy potřen adhezivními látkami, které po přitlačení zajistí přilnutí náplasti ke kůži.

Zásobník obsahuje léčivou látku (látky) a pomocné látky, jako jsou stabilizátory, solubilizátory nebo látky upravující rychlost uvolňování a zvyšující transdermální absorpci léčivých látek. Může zde být jednovrstevná nebo vícevrstevná tuhá nebo polotuhá matrice. Složení a struktura matrice ovlivňují difuzi léčivé látky (látek) do kůže. Zásobník někdy rovněž obsahuje adhezivní látky, které po přitlačení zajistí přilnutí náplasti ke kůži. Přípravek může mít charakter polotuhé matrice, na jejíž jedné straně je membrána, která řídí uvolňování a difuzi léčivé látky (látek) ze zásobníku. Adhezivní látky v tomto případě mohou být nanášeny na část membrány nebo celou membránu nebo pouze okolo okraje membrány na krycí vrstvě.

Po přiložení na suchou čistou a nenarušenou kůži transdermální náplast po jemném přitlačení dlaní nebo prsty pevně přilne ke kůži. Lze ji odloupnout bez většího poškození pokožky nebo odloupnutí účinné látky. Náplast nesmí kůži dráždit nebo alergizovat ani po opakovaných aplikacích.



Ochranná odstranitelná vrstva je tvořena obvykle plastickým nebo kovovým materiálem. Při odstraňování se neodtrhuje zásobník (matrice nebo rezervoár) nebo adhezivní vrstva z náplasti.

Transdermální náplasti se obvykle balí jednotlivě do uzavřených sáčků.

## Výroba

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci se využívá vhodných prostředků k zajištění jejich mikrobiální čistoty; příslušná doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

## Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, transdermální náplasti vyhovují zkoušce C na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem.

**Disoluce.** Použije se vhodná zkouška k prokázání příslušného uvolňování léčivé látky (látek), např. jedna ze zkoušek popsaných ve statí Zkouška disoluce transdermálních přípravků (2.9.4). Podle složení, rozměrů a tvaru náplasti se použije disková nebo průtoková metoda, nebo metoda rotujícího válce.

Lze použít membránu z různých materiálů, která však nesmí ovlivnit uvolňování účinné látky z náplasti, např. z porézní celulosy nebo silikonů. Nesmí rovněž obsahovat látky, které by bránily její funkci (např. mastnotu). Před zkouškou je možné upravit membránu vhodným způsobem, např. uložením na 24 h do média použitého při zkoušce. Membrána se umístí na povrch náplasti v místě uvolňování tak, aby nevznikly vzduchové bubliny.

Podmínky a hodnocení zkoušky schvaluje oprávněná autorita.

## Uchovávání

Při pokojové teplotě, není-li uvedeno jinak.

## Označování

V označení, kde je to vhodné, se uvede celkové množství léčivé látky (látek) v náplasti, dávka uvolněná za jednotku času a velikost plochy, z níž se léčivá látka uvolňuje.

“

204. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, články Granula a Gummi manducabile medicinale znějí:

”

---

## Granula

Zrněné prášky

*Synonyma.* Pulveres granulati, granulata, granule, zrnka, granuláty



2001

---

*Požadavky na zrněné prášky určené k přípravě perorálních roztoků nebo suspenzí jsou uvedeny v článku Liquida peroralia. Kde je předepsáno a schváleno jinak, nevztahují se požadavky tohoto článku na zrněné prášky pro veterinární použití.*

Jsou to léčivé přípravky tvořené z pevných, suchých shluků částic prášků dostatečně odolných při mechanickém namáhání. Jsou určeny k vnitřnímu použití. Jsou polykány přímo nebo žvýkány, nebo se před podáním rozpustí nebo rozmíchají ve vodě nebo jiné vhodné tekutině.

Zrněné prášky obsahují jednu nebo více léčivých látek s pomocnými látkami nebo bez nich, a je-li potřebné, barviva povolená oprávněnou autoritou a chuťové a aromatické přísady.

Zrněné prášky jsou jednodávkové (dělené) nebo vícedávkové (nedělené) přípravky. Jednotlivá dávka u vícedávkového přípravku se podává pomocí odměrky či jiné pomůcky umožňující odměření předepsaného množství. Každá dávka jednodávkového zrněného prášku je v jednotlivém obalu, např. v sáčku, papírovém váčku nebo lahvičce.

Obaly pro zrněné prášky, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Rozlišuje se několik druhů zrněných prášků:

- šumivé zrněné prášky,
- obalené zrněné prášky,
- enterosolventní zrněné prášky,
- zrněné prášky s řízeným uvolňováním.

## Výroba

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci zrněných prášků se používá vhodných způsobů k zajištění jejich mikrobiální čistoty; příslušná doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

## Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost** (2.9.6). Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové zrněné prášky s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost** (2.9.5). Jednodávkové zrněné prášky, s výjimkou obalených zrněných prášků, vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech. Obsahuje-li přípravek prchavé látky, uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

## Granula effervescentia

### Šumivé zrněné prášky

Jsou to neobalené zrněné prášky, obvykle obsahující kyseliny a uhličitany nebo hydrogenuhličitany, které za přítomnosti vody prudce reagují za vzniku oxidu uhličitého. Jsou určeny k rozpouštění nebo dispergaci ve vodě před podáním.

## Zkoušení

**Zkouška rozpadavosti.** Jedna dávka šumivých zrněných prášků se přenese do nádoby s 200 ml vody R při teplotě 15 °C až 25 °C a sleduje se vznik bublinek. Když se zastaví uvolňování plynu od jednotlivých zrn, zrněný prášek má být rozpadlý, a to buď rozpouštěný, nebo dispergovaný ve vodě. Zkouška se opakuje s pěti dalšími dávkami. Přípravek vyhovuje, když každá ze šesti zkoušených dávek se rozpadla do 5 min.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

## Granula obducta

### Obalené zrněné prášky

Jsou to obvykle vícedávkové přípravky obsahující zrna obalená nebo potažená jednou nebo více vrstvami směsí různých pomocných látek.

### Výroba

Látky používané k obalování se obvykle nanášejí ve formě roztoku nebo suspenze za podmínek umožňujících odpaření rozpouštědla.

### Zkoušení

**Disoluce.** Použije se vhodná zkouška k prokázání vhodného uvolňování léčivé látky (látek), např. jedna ze zkoušek popsanych ve stati Zkouška disoluce pevných jednodávkových lékových forem (2.9.3).

## Granula cum liberatione modificata

### Zrněné prášky s řízeným uvolňováním

*Synonymum.* Zrněné prášky s modifikovanou liberací

Jsou tvořeny obalenými nebo neobalenými zrny připravenými pomocí vybraných pomocných látek nebo vybraných postupů použitých samostatně nebo v kombinaci tak, aby se dosáhla vhodná rychlost místo nebo čas uvolňování léčivých látek.

Zrněné prášky s řízeným uvolňováním zahrnují zrněné prášky s prodlouženým uvolňováním a zrněné prášky se zpožděným uvolňováním.

### Výroba

Požadované uvolňování léčivé látky (látek) nebo přísad se prokáže vhodnou zkouškou.

## Granula enterosolventia

### Enterosolventní zrněné prášky

*Synonymum.* Acidorezistentní zrněné prášky

Jsou to přípravky se zpožděným uvolňováním odolné vůči žaludeční šťávě a uvolňující léčivou látku (látky) ve střevní šťávě. Těchto vlastností je dosaženo obalením zrn acidorezistentním materiálem nebo jinými vhodnými prostředky.

### Výroba

Požadované uvolňování léčivé látky (látek) nebo přísad se ověří vhodnou zkouškou.

### Zkoušení

**Disoluce.** Použije se vhodná zkouška k prokázání příslušného uvolňování léčivé látky (látek), např. jedna ze zkoušek popsanych ve stati Zkouška disoluce pevných jednodávkových lékových forem (2.9.3).

## Gummi manducabile medicinale



Léčivé žvýkací gummy

*Synonymum.* Masticabilia gummis medicata

corr2001

Léčivé žvýkací gummy jsou tuhé jednodávkové přípravky, které jsou tvořeny hlavně gumou určenou ke žvýkání, nikoli k polykání.

Obsahují jednu nebo více léčivých látek, které se uvolňují při žvýkání. Podle rozpouštění nebo rozptýlení léčivé látky (látek) ve slinách jsou žvýkací gummy určeny k použití při:

- místní léčbě onemocnění dutiny ústní,
- systémové distribuci po absorpci sliznicí dutiny ústní nebo gastrointestinálním traktem.

### Výroba

Léčivé žvýkací gummy jsou vyráběny ze žvýkacího polymerního základu, který je bez chuti a je tvořen přírodními nebo syntetickými elastomery. Mohou obsahovat další pomocné látky, jako jsou plniva, změkčovadla, sladidla, aromatické přísady, stabilizátory, plastifikátory a barviva, schválené oprávněnou autoritou.

Léčivé žvýkací gummy jsou vyráběny lisováním, případně změkčením nebo tavením žvýkacího polymerního základu a postupným přidáváním dalších látek. V případě tavení jsou žvýkací gummy zpracovány do požadovaného tvaru. Pokud je nutná ochrana před vlhkostí a světlem, mohou být potaženy ochranným povlakem.

Není-li předepsáno a schváleno jinak, provádí se vhodná zkouška prokazující průběh uvolňování léčivých látek.

Při výrobě, balení, skladování a distribuci léčivých žvýkacích gum se využívá vhodných prostředků k zajištění jejich mikrobiální kvality; odpovídající doporučení jsou uvedena ve stati Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

### Zkoušky na čistotu

**Obsahová stejnoměrnost** (2.9.6). Pokud není oprávněnou autoritou stanoveno jinak, žvýkací guma s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo menším než 2 % celkové hmotnosti vyhovuje zkoušce A na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Jestliže přípravek obsahuje více léčivých látek, stanovení se provede pouze u těch látek, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost** (2.9.5). Nepotažené i potažené žvýkací gummy (pokud není předepsáno a schváleno jinak), vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost pevných jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

### Uchovávání

Nepotažené léčivé žvýkací gummy se uchovávají za ochrany před vlhkostí a světlem.

205. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, články Inhalanda, Inserta intraruminalia Liquida ad usum dermicum, Liquida peroralia, Nasalia a Ocularia znějí:

”

## Inhalanda

### Inhalační přípravky



2001

Jsou to tekuté nebo tuhé přípravky určené k podání ve formě par nebo aerosolů do plic k místnímu nebo celkovému účinku. Obsahují jednu nebo několik léčivých látek rozpuštěných nebo dispergovaných ve vhodném vehikulu.

Inhalační přípravky mohou, podle typu přípravku, obsahovat propelenty, rozpouštědla, ředidla, protimikrobní přísady, solubilizátory nebo stabilizátory apod. Pomocné látky nemají nepříznivý účinek na funkci mukózy nebo cilií v dýchacích cestách.

Inhalační přípravky se dodávají ve vícedávkových nebo jednodávkových obalech. Jsou-li v tlakovém balení, vyhovují požadavkům článku *Praeparata pharmaceutica in vasis cum pressu*.

Přípravky určené k podání ve formě aerosolů (disperze pevných nebo kapalných částic v plynu) se aplikují jedním z těchto zařízení:

- rozprašovačem (nebulizerem),
- dávkovacím tlakovým inhalátorem,
- inhalátorem pro suchý prášek.

### Výroba

Při vývoji inhalačního přípravku obsahujícího protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady k uspokojení oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení a kritéria pro posouzení konzervačních vlastností v daném složení přípravku jsou popsány ve stati Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3).

Kontrola velikosti inhalovaných aerosolových částic zajistí, aby se podstatná část částic dostala do plic. Frakce jemných částic inhalačních přípravků se stanoví vhodnou metodou aerodynamického stanovení jemných částic (2.9.18).

Při stanovení stejnoměrnosti podané dávky mohou výrobci použít alternativní postupy posuzující více inhalátorů. Tak má být zajištěno splnění lékopisných požadavků u všech inhalátorů.

Tlakové dávkovací inhalátory jsou zkoušeny na těsnost a všechny inhalátory jsou zkoušeny na kontaminaci cizími částicemi.

### Označování

V označení na obalu dávkovaného přípravku se uvede:

- aplikační dávka, s výjimkou přípravků, u nichž byla dávka stanovena jako odměřená dávka nebo jako předdávkováná dávka,
- kde je to vhodné, počet podání (stříků, insulací) z balení pro dosažení minimální doporučené dávky,
- počet dávek v balení přípravku.

Kde je to vhodné, v označení na obalu se uvedou názvy všech protimikrobních přísad.

## Inhalanda liquida

### Tekuté inhalační přípravky

Lze rozlišit tři druhy tekutých inhalačních přípravků:

- A. přípravky tvořící páry,
- B. tekutiny k rozprašování,
- C. dávkované tlakové přípravky pro inhalaci.

Tekuté inhalační přípravky jsou roztoky nebo disperze.

Disperze jsou snadno homogenizovatelné protřepáním a jsou natolik stabilní, aby bylo umožněno podání správné dávky. Mohou se použít vhodné pomocné látky.

## A. Inhalanda vaporem formantia

### Inhalační přípravky tvořící páry

Jsou to roztoky, disperze nebo tuhé přípravky, které se obvykle přidávají do horké vody a výpary se inhalují.

## B. Liquida nebulam formantia

### Tekutiny pro rozprašování

Jsou to přípravky určené k přeměně na aerosoly pomocí kontinuálně pracujících rozprašovačů nebo dávkovacích rozprašovačů. Tvoří je roztoky, suspenze nebo emulze. Ke zlepšení rozpustnosti léčivých látek lze použít vhodná rozpouštědla a solubilizátory.

Kapaliny pro rozprašování v koncentrovaném stavu se před použitím v kontinuálně pracujících rozprašovačích ředí na předepsaný objem předepsanou kapalinou. Kapaliny pro rozprašování mohou být také připraveny z prášků.

Vodné tekutiny v kontinuálně pracujících rozprašovačích mají hodnotu pH 3 až 8,5.

Suspenze a emulze se snadno zhomogenizují protřepáním a zůstávají dostatečně stabilní, že umožní podat správnou dávku.

Vodné přípravky pro inhalaci se dodávají ve vícedávkových obalech. Pokud přípravek nemá přiměřené protimikrobní vlastnosti, může obsahovat vhodnou protimikrobní přísadu v odpovídající koncentraci.

Kontinuálně pracující rozprašovače jsou zařízení přeměňující kapaliny na aerosoly pomocí vysokého tlaku plynů, ultrazvukových vibrací nebo jinými způsoby. Tato zařízení umožňují tvorbu částic při vhodné rychlosti o vhodné velikosti a tím jejich inhalaci a vpravení do plic.

Dávkovací rozprašovače jsou zařízení přeměňující kapaliny na aerosoly pomocí vysokého tlaku plynů, ultrazvukových vibrací nebo jinými způsoby. Objem kapaliny tvořící aerosol je odměřen tak, aby dávka aerosolu mohla být inhalována jedním vdechnutím.

## C. Inhalanda in vasis cum pressu doses emittentia

### Dávkované tlakové přípravky pro inhalaci

Jsou to roztoky, suspenze nebo emulze dodávané ve speciálních nádobách (tlakovkách) opatřených dávkovacím ventilem. Tyto přípravky jsou udržovány pod tlakem vhodnými hnacími plyny nebo vhodnou směsí zkapalněných propelentů, které mohou být současně rozpouštědly. Mohou se přidat vhodná rozpouštědla, solubilizátory a stabilizátory.

Podaná dávka je dávka, která je z inhalátoru podána pacientovi. U některých přípravků je dávka pevně stanovena jako odměřená dávka. Odměřenou dávku určuje množství přípravku vložené do zařízení. Odměřenou dávku lze stanovit také přímo.

## Zkoušení

**Stejnoměrnost podané dávky.** Tlakové nádoby se obvykle používají v obrácené poloze. Pro nádoby, s nimiž se pracuje ve vzpřímené poloze, se použije srovnatelná zkouška využívající metod zajišťujících úplné zachycení podané dávky uvolněné z ventilu u vzpřímené tlakovky. Inhalátor se vždy připraví podle pokynů v instrukcích pro pacienta.

Použije se zařízení kvantitativně zachycující podanou dávku.

Vhodné zařízení je na obrázku 1. Skládá se z držáku filtru, sběrné trubice a adaptéru pro náustek inhalátoru. V držáku filtru je podložka pro filtr, např. mřížka z nerezové oceli. Sběrnou trubici lze přišroubovat nebo upevnit k držáku filtru. Adaptér má vzduchotěsně upevnit náustek inhalátoru k zařízení. Použije se adaptér, který zajistí, aby čelo náustku bylo zarovnáno se vstupní částí sběrné trubice. Přípojka na vakuum se spojí se systémem zahrnujícím zdroj vakua a regulaci průtoku. Sání vzduchu procházejícího celým zařízením, zahrnujícím filtr a nasazený inhalátor, je upraveno na rychlost

( $28,3 \pm 1,5$ ) l/min. Vzduch by měl kontinuálně procházet zařízením tak, aby byla vyloučena ztráta léčiva do atmosféry. Držák filtru je uzpůsoben k použití kruhových filtrů o průměru 25 mm. Filtr a další materiály, tvořící zařízení, jsou kompatibilní s léčivem a rozpouštědly, které se použijí k extrakci léčiva z filtru. Jeden konec sběrné trubice je přizpůsoben k těsnému uchycení kruhového filtru k základní části držáku filtru. Po sestavení jsou jednotlivé spoje zařízení vzduchotěsné. Připojením vakua k držáku filtru veškerý vzduch, procházející sběracím zařízením, prošel inhalátorem.

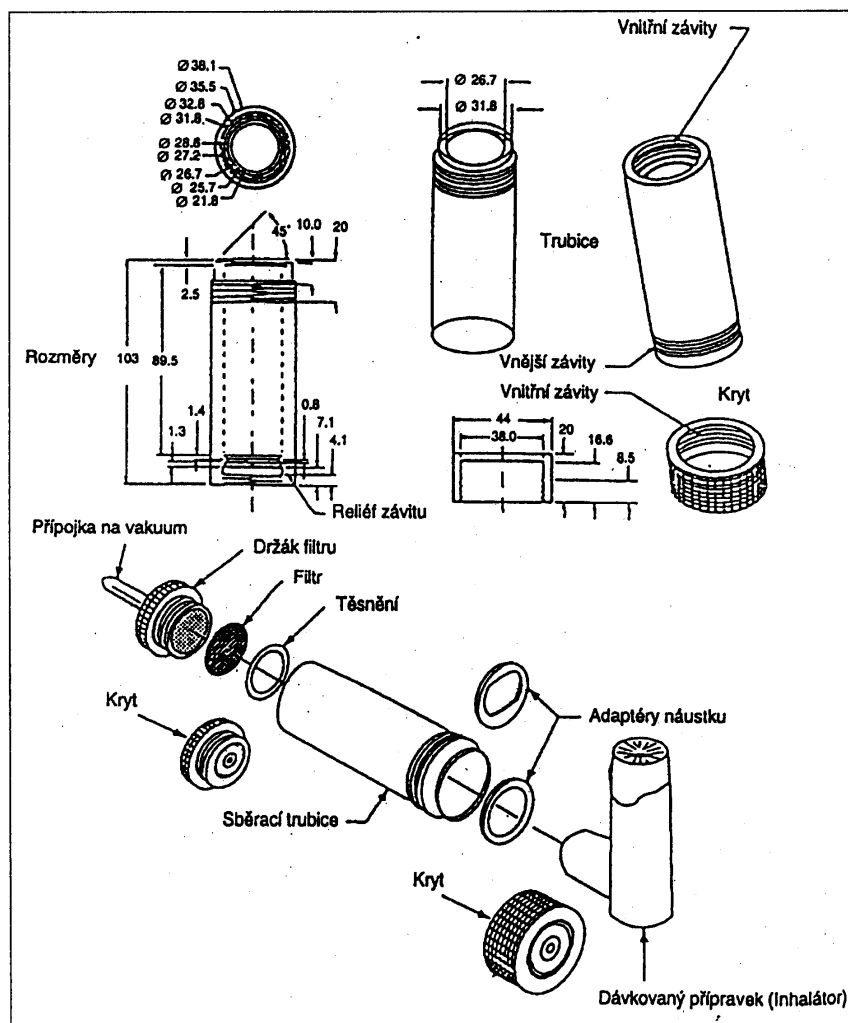
Není-li v instrukcích pro pacienty předepsáno jinak, třepe se inhalátorem 5 s a vystříkne se jednou do odpadu. Po připojení k zařízení se vystříkne aerosol stisknutím ventilu na dobu zajišťující kompletní výstřik. Celý postup se opakuje, až počet vystříknutí odpovídá minimálně doporučené dávce. Obsah ze zařízení se kvantitativně shromáždí a stanoví se množství léčivé látky.

Postup se opakuje s dalšími dvěma dávkami.

Přípravek se vyprazdňuje do odpadu s přestávkami nejméně 5 s mezi jednotlivými výstřiky tak dlouho, až v obalu zůstane  $n/2 + 1$  dávek, kde  $n$  je počet dávek uvedených v označení na obalu. Výše popsaným postupem se nyní stanoví obsahy čtyř dávek.

Přípravek se dále vyprazdňuje do odpadu s přestávkami nejméně 5 s mezi jednotlivými výstřiky, až v obalu zůstane tři dávky. Výše popsaným postupem se nyní stanoví obsahy tří dávek.

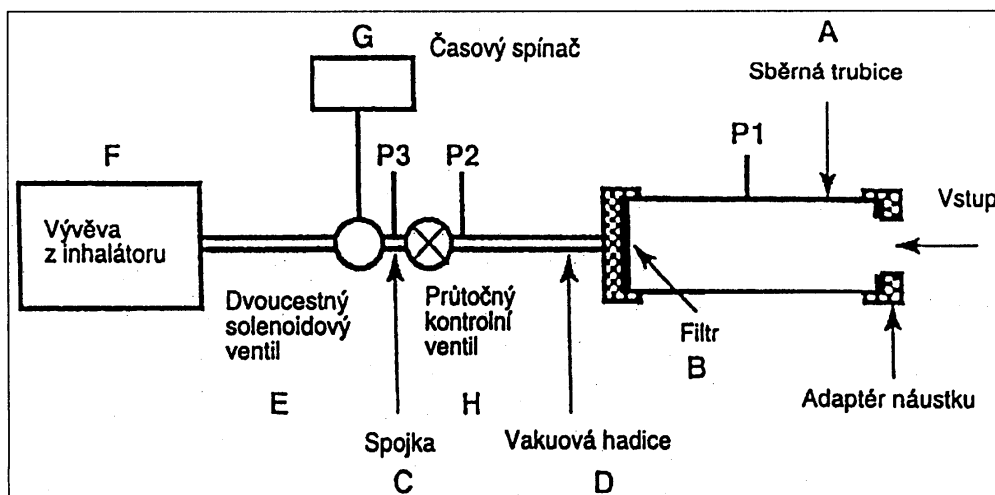
U přípravků obsahujících více léčivých látek se provede zkouška stejnoměrnosti podané dávky pro každou účinnou látku.



Obr. 1 Sběrné zařízení pro dávkované tlakové přípravky (rozměry v milimetrech)

Tab. 1 Specifikace dílů k obr. 2

Označení	Název	Popis
A	sběrná trubice	je schopna zachytit podanou dávku, např. trubice pro sběr dávky viz obr. 1, s rozměry: vnitřní průměr 34,85 mm, délka 12 cm (např. výrobek č. XX40047 00, Millipore Corp., Bedford, MA 01732 s upravenou výstupní trubicí, vnitřní průměr $\geq 8$ mm, přizpůsobený výrobku fy Gelman č.61631), nebo ekvivalentní
B	filtr	47 mm filtr, např. A/E filtr ze skleněných vláken (Gelman Sciences, Ann Arbor, MI 48106), nebo ekvivalentní
C	spojka	vnitřní průměr $\geq 8$ mm, např. krátká kovová spojka, s odbočkou k P3 s malým průměrem
D	vakuová hadice	vnitřní průměr ( $8 \pm 0,5$ ) mm, délka ( $50 \pm 10$ ) cm, např. siliková hadice vnějšího průměru asi 14 mm a vnitřního průměru asi 8 mm
E	dvoucestný solenoidový ventil	ústí s minimálním odporem průtoku vzduchu, vnitřním průměrem $\geq 8$ mm a maximálním časem odezvy 100 ms (např. typ 256-A08, Burkert GmbH, D7118) nebo ekvivalentní
F	vývěva	vyhovuje kapacitou pro požadovanou rychlost průtoku vzduchu zařízením s napojeným práškovým inhalátorem přes náustkový adaptér (např. výrobky typu 1023, 1423 nebo 2565, Gast Manufact. Inc., Benton Harbor, MI 49022), nebo ekvivalentní. Vývěva je propojena se solenoidovým ventilem krátkou a/nebo širokou ( $\geq 10$ mm vnitřní průměr) vakuovou hadicí, spoje minimalizující snížení kapacity vývěvy
G	časový spínač	schopný řídit solenoidní ventil v požadovaných časových periodách (např. typ G814, RS Components Int., Corby, NN17 9RS, UK) nebo ekvivalentní
P1	přípoj na tlakoměr	vnitřní průměr 2,2 mm, vnější 3,1 mm, proplachování vnitřního povrchu sběrné trubice, vystředěno, bez hrubých okrajů, 59 mm od ústí
P1, P2, P3	tlakoměry	diferenciální tlak k atmosféře (P1) nebo absolutní tlak (P2 a P3)
H	průtokový kontrolní ventil	nastavitelný regulační ventil s maximálním $C_v \geq 1$ , (např. typ 8FV12LNSS, Parker Hannifin plc., Barnstaple, EX31 1NP, UK) nebo ekvivalentní



Obr. 2 Aparatura vhodná ke stanovení stejnoměrnosti podané dávky pro práškové inhalátory



Není-li předepsáno a schváleno jinak, přípravek vyhovuje zkoušce, když nejméně devět z deseti výsledků je v rozmezí 75 % až 125 % průměrné hodnoty a všechny výsledky jsou v rozmezí 65 % až 135 % průměrné hodnoty. Jestliže dva nebo více výsledků jsou mimo rozmezí 75 % až 125 %, opakuje se zkouška s dalšími dvěma tlakovými nádobami. Nejvýše tři z třiceti výsledků mohou být mimo rozmezí 75 % až 125 % a žádný výsledek není mimo rozmezí 65 % až 135 % průměrné hodnoty.

**Dávka jemných částic.** Použije se zařízení a postup popsany v článku *Přípravky k inhalaci: aerodynamické stanovení jemných částic (2.9.18 přístroj C nebo D)* a vypočte se dávka jemných částic.

**Počet dávkových jednotek v nádobce.** Tlaková nádoba s přípravkem (inhalátor) se stisknutím ventilu vyprázdní do odpadu vždy nejméně po 5 s. Celkový počet takto zjištěných dávkových jednotek není menší, než je uvedeno v označení. (Tuto zkoušku lze kombinovat se zkouškou na stejnoměrnost podaných dávek.)

## Pulveres ad inhalationem

### Prášky k inhalaci

Jsou to přípravky ve formě jednodávkových dělených prášků nebo vícedávkových nedělených prášků. Pro usnadnění použití mohou být léčivé látky kombinovány s vhodným nosičem. Podávají se pomocí inhalátorů pro suché prášky. U předem dávkovaných systémů se inhalátor plní předem dělenými prášky z tobolek nebo z jiné vhodné lékové formy. U zařízení používajících prášek ze zásobníku je dávka odměřena dávkovacím mechanismem v inhalátoru.

Podaná dávka je dávka, která je z inhalátoru podána pacientovi. U některých přípravků je dávka pevně stanovena jako odměřená dávka nebo jako předdávkovaná dávka. Odměřená dávka je určena vložением množství přípravku do zařízení k podání dávky. Odměřenou dávku lze stanovit také přímo.

### Zkoušení

**Stejnóměrnost podané dávky.** Ve všech případech se připraví inhalátor podle předpisu v pokynech pro pacienta. Použije se sběrné zařízení schopné kvantitativně zachytit podanou dávku. Sběrné zařízení, podobné popsanému ve zkoušce pro tlakové dávkované přípravky pro inhalaci, lze použít za předpokladu, že trubice a filtr vyhovují požadované měřené rychlosti průtoku plynů. Vhodná trubice je uvedena na obrázku 1.

Trubice se spojí s odsávacím systémem podle schématu a popisu uvedených na obrázku 2 a v tabulce 1.

Není-li předepsáno jinak, provede se zkouška při rychlosti průtoku a době za použití trubice pro sběr dávky spojené s odsávacím systémem, vhodným diferenciálním tlakoměrem, vhodným objemovým průtokoměrem kalibrovaným pro odtokové měření v souladu s následujícím postupem.

Inhalátor připravený k použití se připojí k vstupní části zařízení přes náustkový adaptér zajišťující vzduchotěsný spoj. Použije se adaptér, který zajistí, aby čelo náustku sahalo ke vstupní části sběrné trubice. Jeden vstup diferenciálního tlakoměru se připojí k místu P1 na obrázku 2 a další se ponechá otevřený vzhledem k atmosféře. Zapne se vývěva, otevře se dvoucestný ventil a nastaví se kontrolní průtokový ventil tak, aby tlak, zaznamenaný diferenciálním tlakoměrem, po průchodu vzduchu inhalátorem byl 4,0 kPa (40,8 cm H<sub>2</sub>O). Sejme se inhalátor z náustkového adaptéru a bez změny polohy průtočného kontrolního ventilu se připojí průtokoměr ke vstupu vzorkovacího zařízení. Je-li rychlost průtoku nad 100 l/min, nastaví se průtočným ventilem na hodnotu (100 ± 5) l/min. Hodnota se zaznamená a používá se dále jako testovací průtoková rychlost Q, v litrech za minutu. Určí se testovací doba průtoku T v sekundách tak, aby za tuto dobu protekly přes inhalátor 4 litry vzduchu.

Kritický průtok přes průtočný kontrolní ventil se zajistí dále uvedeným způsobem. S připojeným inhalátorem se měří absolutní hodnoty tlaku na obou stranách průtočného ventilu (viz odečítací body tlaku P3 a P3 na obr. 2), za testovací průtokové rychlosti Q. Poměr P3/P2 menší nebo rovnající se 0,5 indikuje kritický průtok. Není-li dosaženo kritického průtoku, zvýší se výkon (otáčky) vývěvy a měření se opakuje.

**Předdávkované systémy.** Inhalátor se připraví podle pokynů pro pacienta a napojí se na sběrné zařízení pomocí dobře těsnícího adaptéru. Pustí se vzduch přes inhalátor podle výše určených podmínek. Celý postup se opakuje až počet podání odpovídá minimálně doporučené dávce. Kvantitativně se shromáždí obsah léčiva ze zařízení a stanoví se množství léčivé látky.

Postup se opakuje s dalšími devíti dávkami.

**Zásobníkové systémy.** Inhalátor se připraví podle pokynů pro pacienta a napojí se na sběrné zařízení pomocí dobře těsnícího adaptéru. Pustí se vzduch přes inhalátor podle výše určených podmínek. Celý postup, se opakuje až počet podání odpovídá minimálně doporučené dávce. Kvantitativně se shromáždí obsah ze zařízení a stanoví se množství léčivé látky.

Postup se opakuje s dalšími dvěma dávkami.

Přípravek se vyprázdňuje do odpadu, až v zásobníku zůstane  $n/2 + 1$  dávek, kde  $n$  je počet dávek uvedených v označení na obalu. Je-li třeba, nechá se vybit elektrostatický náboj inhalátoru před dalším použitím. Výše popsaným postupem se nyní stanoví obsahy čtyř dávek.

Přípravek se dále vyprázdňuje do odpadu, až v obalu zůstanou tři dávky. Je-li třeba, nechá se vybit elektrostatický náboj inhalátoru před dalším použitím. Výše popsaným postupem se nyní stanoví obsahy tří dávek.

U přípravků obsahujících více účinných látek se provede zkouška stejnoměrnosti podané dávky pro každou léčivou látku.

Není-li předepsáno a schváleno jinak, přípravek vyhovuje zkoušce, když nejméně devět z deseti výsledků je v rozmezí 75 % až 125 % průměrné hodnoty a všechny výsledky jsou v rozmezí 65 % až 135 % průměrné hodnoty. Jestliže dva nebo více výsledků je mimo rozmezí 75 % až 125 %, opakuje se zkouška s dalšími dvěma inhalátory. Nejvýše tři z třiceti výsledků mohou být mimo rozmezí 75 % až 125 % a žádný výsledek není mimo rozmezí 65 % až 135 % průměrné hodnoty.

V předepsaných a schválených případech může být rozsah hodnot větší, ale žádný naměřený výsledek není vyšší než 150 % a není nižší než 50 % průměrné hodnoty.

**Dávka jemných částic.** Použije se zařízení a postup popsaný ve stati Přípravky k inhalaci aerodynamické stanovení jemných částic (2.9.18, *přístroj C nebo D*) a vypočte se dávka jemných částic.

**Počet dávkových jednotek v nádobce vícedávkového inhalátoru.** Dávky se vyprázdňují ze zařízení vhodnou tokovou rychlostí. Zaznamenaná se počet podání. Celkový počet dávkových jednotek není menší, než je uvedeno v označení na obalu. (Tuto zkoušku lze kombinovat se zkouškou na stejnoměrnost podaných dávek.)

---

## Inserta intraruminalia

### Intraruminální inzerty

*Synonymum.* Praeparationes intraruminales



2001

*Požadavky tohoto článku se nevztahují na přípravky (označené někdy jako boly), jakými jsou obvykle velké tablety, tobolky nebo tvarované lékové formy, ze kterých se účinná látka (účinné látky) uvolňuje ihned nebo postupně. Na tyto přípravky se vztahují příslušné oddíly článků Tabuletae nebo Capsulae.*

Intraruminální inzerty jsou pevné přípravky obsahující jednu nebo více účinných látek. Jsou určeny k perorálnímu podání přežvýkavcům a uzpůsobeny tak, aby se zadržely v batoru ke kontinuálnímu nebo pulznímu uvolňování účinné látky (účinných látek). Doba uvolňování může být různá, od několika dnů po několik týdnů, podle povahy receptury a/nebo inzertu.

Intraruminální inzerty se podávají podavačem pilulek. Některé jsou určeny k tomu, aby se vznášely na hladině batorové tekutiny, zatímco jiné jsou určeny k setrvání na bázi batoru nebo čepce. Každý inzert má hustotu přiměřenou předpokládanému použití.

### Výroba

Pro kontinuální uvolňování je intraruminální inzert konstruován tak, aby účinná látka (účinné látky) byla uvolňována ve stanovené míře po stanovenou dobu. Toho je dosahováno erozí, korozí, difuzí, osmotickým tlakem nebo jiným vhodným chemickým, fyzikálním nebo fyzikálně-chemickým pochodem.

Pro pulzní uvolňování je intraruminální inzert uzpůsoben k uvolňování určitého množství účinné látky (účinných látek) v jednom nebo v několika vymezených časových intervalech. Toho je dosahováno korozí kovových složek inzertu působením batorové tekutiny vedoucí k následnému uvolňování dílčích jednotek, které jsou obvykle ve formě tablet.

Při výrobě intraruminálních inzertů jsou uplatňovány postupy, kterými je zajišťováno přiměřené uvolňování účinné látky (účinných látek).

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci intraruminálních inzertů jsou přijímána vhodná opatření k zabezpečení jejich mikrobiologické jakosti; při tom se postupuje podle požadavků uvedených v článku Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

## Zkoušky

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Pokud není předepsáno a schváleno jinak, dílčí tabletové jednotky intraruminálních inzertů, obsahující účinné látky v množství menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti, vyhovují požadavkům zkoušky A na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Jestliže přípravek obsahuje více než jednu účinnou látku, vztahují se požadavky jen na účinné látky odpovídající výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Pokud není předepsáno a schváleno jinak, dílčí tabletové jednotky intraruminálních inzertů vyhovují požadavkům zkoušky na hmotnostní stejnoměrnost.

Pokud je zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny účinné látky, zkouška na hmotnostní stejnoměrnost není vyžadována.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- u kontinuálně uvolňujících inzertů dávka uvolňovaná za jednotku času,
- u pulzně uvolňujících inzertů dávka uvolňovaná ve vymezených časových intervalech.

---

# Liquida ad usum dermicum

Tekutiny pro kožní aplikaci

*Synonymum.* Praeparationes liquidae ad usum dermicum



2001

---

*Kde je předepsáno a schváleno, požadavky tohoto článku se nevztahují na tekutiny pro kožní aplikaci určené pro veterinární použití.*

Jsou to tekuté přípravky různé viskozity určené k aplikaci na kůži (včetně vlasové části) nebo nehty k dosažení požadovaného místního nebo transdermálního účinku. Jsou to roztoky, emulze nebo suspenze, které obsahují jednu nebo více léčivých látek ve vhodném rozpouštědle. Mohou obsahovat vhodné protimikrobní přísady, antioxidační látky anebo pomocné látky, jako jsou stabilizátory, emulgátory nebo látky zvyšující viskozitu.

V emulzích se mohou oddělovat fáze, které jsou snadno protřepáním znovu homogenizovatelné. Suspenze mohou obsahovat sediment, který lze snadno rozřepat; takto vzniklá suspenze je natolik stabilní, aby bylo umožněno podání homogenního přípravku.

Obaly pro tekutiny pro kožní aplikaci, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Pokud jsou tekutiny pro kožní aplikaci dodávány v tlakových nádobách, vyhovují požadavkům článku *Praeparata pharmaceutica in vasis cum pressu*.

Přípravky určené k aplikaci na vážně poškozenou kůži jsou sterilní.

Rozlišuje se několik druhů tekutin pro kožní aplikaci:

- šampony,
- kožní pěny.

## Výroba

Při vývoji tekutiny pro kožní aplikaci obsahující protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady k uspokojení oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení spolu s kritérii pro posouzení konzervačních vlastností v daném složení přípravku je popsána ve stati Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3).

Při výrobě, balení, skladování a distribuci tekutin pro kožní aplikaci se využívají vhodné způsoby zajištění jejich mikrobiální čistoty; odpovídající doporučení jsou ve stati Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.5).

Sterilní tekutiny ke kožní aplikaci jsou vyráběny za použití materiálů a metod určených k zajištění sterility a zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; odpovídající doporučení jsou ve stati Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1).

Při výrobě tekutin pro kožní aplikaci obsahujících dispergované částice se využívají měření k zajištění vhodné a kontrolované velikosti částic pro určené použití.

## Zkoušení

**Využitelná hmotnost nebo objem** (2.9.28): Tekuté přípravky dodávané v jednodávkových obalech vyhovují zkoušce.

**Sterilita** (2.6.1). Je-li přípravek označen jako sterilní, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech. Je-li přípravek sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- název všech protimikrobních přísad,
- kde je to vhodné, zda je přípravek sterilní.

## Saponata medicinalia

### Šampony

Jsou to tekuté nebo polotuhé přípravky určené k aplikaci na pokožku s vlasy a následnému opláchnutí vodou. Smíchané s vodou obvykle pění.

Šampony jsou emulze, suspenze nebo roztoky. Obsahují povrchově aktivní látky.

## Spumae dermales

### Kožní pěny

Vyhovují požadavkům uvedeným v článku *Spumae medicatae*.

---

## Liquida peroralia

### Perorální tekutiny

*Synonymum*. Praeparationes liquidae peroraliae



2001

---

*Kde je předepsáno a schváleno, požadavky tohoto článku se nevztahují na perorální tekutiny pro veterinární použití.*

Jsou to obvykle roztoky, emulze nebo suspenze obsahující jednu nebo více léčivých látek ve vhodném rozpouštědle; některé perorální tekutiny mohou být jen samotné kapalné léčivé látky.

Perorální tekutiny jsou určeny k polykání neředěné nebo po zředění. Některé přípravky určené k perorální aplikaci se připravují ředěním z koncentrovaných tekutých přípravků, prášků nebo granulí, určených pro přípravu perorálních kapek nebo sirupů s využitím vhodných pomocných látek.

Pomocné látky pro perorální tekutiny jsou vybrány s přihlédnutím k povaze účinné látky (účinných látek) a dosažení organoleptických vlastností vhodných k použití přípravku.

Perorální tekutiny mohou obsahovat vhodné protimikrobní přísady, antioxidanty a jiné pomocné látky, jako dispergační přísady, stabilizátory suspenzí, zahušřovačla, látky zvyšující viskozitu, emulgátory, tlumivé roztoky, smáčedla, solubilizátory, stabilizátory, korigencia, sladidla a barviva schválená oprávněnou autoritou.

V emulzích se mohou oddělovat fáze, které jsou snadno protřepáním znovu homogenizovatelné. Suspenze mohou obsahovat sediment, který lze snadno rozřepat; takto vzniklá suspenze je natolik stabilní, aby bylo umožněno podání správné dávky.

Obaly pro perorální tekutiny, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Rozlišujeme několik druhů perorálních tekutin:

- perorální roztoky, emulze a suspenze,
- prášky a granule pro perorální roztoky a suspenze,
- perorální kapky,
- prášky pro perorální kapky,
- sirupy,
- prášky a granule pro sirupy.

## Výroba

Při vývoji perorální tekutiny obsahující protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady k uspokojení oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení spolu s kritérii pro posouzení konzervačních vlastností v daném složení přípravku je popsána ve statí Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3).

Při výrobě, balení, skladování a distribuci perorálních tekutin se využívají vhodné způsoby k zajištění jejich mikrobiální čistoty; odpovídající doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

Při výrobě perorálních tekutin obsahujících dispergované částice se využívají měření k zajištění vhodné a kontrolované velikosti částic pro určené použití.

## Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost.** Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové tekuté přípravky ve formě suspenze vyhovují následující zkoušce. Po protřepání se každý obal co nejvíce vyprázdní a stanoví se jednotlivé obsahy. Přípravek vyhovuje zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem (2.9.6).

**Hmotnostní stejnoměrnost.** Jednodávkové tekuté přípravky ve formě roztoku nebo emulze vyhovují následující zkoušce. Zváží se jednotlivě hmotnosti obsahu 20 obalů co nejvíce vyprázdněných a vypočte se průměrná hmotnost. Nejvíce dvě jednotlivé hmotnosti se odlišují od průměrné hmotnosti o více než 10 % a žádná se neliší o více než 20 %.

**Dávka a dávková stejnoměrnost perorálních kapek.** Do vhodného odměrného válce se pomocí kapacího zařízení odkape obvykle předepsovaný počet kapek pro jednu dávku nebo se do odměrného válce vpraví pomocí odměrky obvykle předepsovaná dávka. Rychlost kapání nepřesahuje dvě kapky/s. Tekutiny se zváží, dávkování se opakuje a opět zváží. Celý proces se opakuje, až se stanoví jednotlivé hmotnosti deseti dávek. Vypočte se průměrná hmotnost. Žádná z jednotlivých hmotností se neliší od průměrné hmotnosti o více než 10 %. Součet 10 jednotlivých hmotností se neliší o více než 15 % od deklarované hmotnosti 10 dávek. Je-li třeba, odměří se objem 10 dávek. Tento objem se neliší o více než 15 % od deklarovaného objemu 10 dávek.

**Využitelná hmotnost nebo objem (2.9.28).** Perorální tekutiny dodané v jednodávkovém obalu vyhovují zkoušce.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvedou názvy všech protimikrobních přísad.

## Solutiones, emulsiones et suspensiones perorali

Perorální roztoky, emulze a suspenze

Perorální roztoky, emulze a suspenze jsou dodávány v jednodávkových a vícedávkových obalech. Každá dávka z vícedávkového obalu je podána pomocí zařízení vhodného k měření předepsaného objemu. Vhodným zařízením pro objem 5 ml nebo jeho násobky je obvykle lžička nebo pohárek, pro jiné objemy perorální sříkačka.

## Pulveres et granulata pro solutione aut suspensione perorali

Prášky a zrněné prášky pro perorální roztoky a suspenze

*Synonymum.* Prášky a granule pro perorální roztoky a suspenze

Jsou to přípravky pro perorální podání, které odpovídají definicím v člancích *Pulveres perorales* a *Granula*. Mohou obsahovat pomocné látky k usnadnění dispergace nebo rozpuštění a k zabránění shlukování.

Po přípravě roztoku nebo suspenze tyto vyhovují požadavkům na perorální roztoky nebo perorální suspenze, kde je to vhodné.

## Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové prášky a jednodávkové zrněné prášky s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Jednodávkové prášky a jednodávkové zrněné prášky vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- návod na přípravu roztoku nebo suspenze,
- podmínky a doba uchovávání připraveného roztoku nebo suspenze.

## Guttae perorales

Perorální kapky

Jsou to roztoky, emulze nebo suspenze podávané v malých objemech, po kapkách, pomocí vhodného zařízení.

## Označování

U perorálních kapek, jejichž dávka je odměřována kapkami, se uvádí údaj o počtu kapek na mililitr přípravku nebo gram přípravku.

## Pulveres pro guttae perorales

### Prášky pro perorální kapky

Prášky pro perorální kapky odpovídají definicím v člancích *Pulveres perorales*. Mohou obsahovat pomocné látky k usnadnění rozpouštění nebo dispergace v předepsané kapalině nebo k zabránění shlukování.

Připravený roztok nebo suspenze vyhovuje požadavkům na perorální kapky.

### Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové prášky pro perorální kapky s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Jednodávkové prášky pro perorální kapky vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

## Sirupi

### Sirupy

Jsou to přípravky obsahující vodu, charakterizované sladkou chutí a viskózní konzistencí. Mohou obsahovat sacharózu v koncentraci nejméně 45 % celkové hmotnosti. Sladká chuť může být dosažena použitím polyolů vícesytných alkoholů nebo umělých sladidel. Sirupy obsahují obvykle aromatické látky nebo jiná korigencia pachu a chuti. Každá dávka z vícedávkového obalu je podána pomocí zařízení vhodného k měření předepsaného objemu. Vhodným zařízením pro objem 5 ml a jeho násobky je obvykle lžička nebo pohárek.

### Označování

Na obalu se uvede název a koncentrace použitého vícesytného alkoholu nebo umělého sladidla.

## Pulveres et granulata pro sirupi

### Prášky a granule pro sirupy

Prášky a granule pro sirupy vyhovují článkům *Pulveres perorales* a *Granula*. Mohou obsahovat pomocné látky k usnadnění rozpouštění. Po rozpuštění vyhovují článku *Sirupi*.

### Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové prášky a granule pro sirupy s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Jednodávkové prášky a granule pro sirupy vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

## Nasalia

### Nosní přípravky



2001

Jsou to tekuté, polotuhé nebo tuhé přípravky určené k podání do nosní dutiny k dosažení systémového nebo místního účinku. Obsahují jednu nebo více léčivých látek. Nosní přípravky jsou pokud možno nedráždivé a bez nepříznivého vlivu na funkci nosní mukózy a cilií. Vodné nosní přípravky jsou obvykle izotonické a mohou obsahovat pomocné látky např. pro úpravu viskozity přípravku nebo stabilizaci pH, pro zvýšení rozpustnosti účinné látky nebo pro stabilizaci přípravku.

Nosní přípravky jsou dodávány ve vícedávkových nebo jednodávkových obalech opatřených, pokud je to nutné, vhodným aplikačním zařízením zabezpečeným proti znečištění.

Pokud není předepsáno a schváleno jinak, vodné nosní přípravky dodávané ve vícedávkových obalech obsahují vhodné protimikrobní přísady ve vhodné koncentraci, kromě případu, kdy samotný přípravek má přiměřené protimikrobní vlastnosti.

Obaly pro nosní přípravky, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Rozlišuje se několik druhů nosních přípravků:

- nosní kapky a tekuté nosní spreje,
- zásypy do nosu,
- polotuhé nosní přípravky,
- nosní omývadla,
- nosní tyčinky.

### Výroba

Při vývoji nosního přípravku obsahujícího protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady k uspokojení oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení spolu s kritérii pro posouzení konzervačních vlastností v daném složení přípravku je popsána ve statí Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3).

Při výrobě, balení, skladování a distribuci nosních přípravků je vhodnými způsoby zajištěna jejich mikrobiální čistota; odpovídající doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

Sterilní nosní přípravky jsou vyráběny za použití materiálů a metod určených k zajištění sterility a zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; odpovídající doporučení jsou ve statí Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1).

Při výrobě nosních přípravků obsahujících dispergované částice se využívají měření k zajištění vhodné a kontrolované velikosti částic pro určené použití.

### Zkoušení

**Sterilita** (2.6.1). Je-li přípravek označen jako sterilní, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech. Je-li přípravek sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- název všech protimikrobních přísad,
- kde je to vhodné, zda je přípravek sterilní.

## Rhinoguttae et praeparata liquida nasalia pro aerodispersione

Nosní kapky a tekuté nosní spreje



Jsou to roztoky, emulze nebo suspenze určené ke vkápnutí nebo vstříknutí do nosní dutiny. V emulzích se mohou oddělovat fáze, ale protřepáním se snadno znovu zhomogenizují. Suspenze mohou obsahovat sediment, který lze snadno roztřepat; takto vzniklá suspenze je natolik stabilní, aby umožňovala podání správné dávky.

Nosní kapky jsou obvykle dodávány ve vícedávkových nádobách opatřených vhodným aplikátorem. Tekuté nosní spreje jsou dodávány v nádobách s rozprašovacím zařízením nebo v tlakových nádobách s vhodným aplikátorem, popřípadě s dávkovacím ventilem, které vyhovují požadavkům článku *Praeparata pharmaceutica in vasis cum pressu*.

Velikost částic spreje má být taková, aby jejich usazování bylo omezeno na nosní dutinu.

## Zkoušení

Pokud není předepsáno a schváleno jinak, nosní kapky v jednodávkových obalech a dávkované nosní spreje pro celkový účinek vyhovují následujícím zkouškám.

**Hmotnostní stejnoměrnost.** Nosní kapky ve formě roztoku vyhovují následující zkoušce. Zváží se jednotlivě obsah deseti obalů vyprázdněných, jak lze nejvíce, a vypočte se průměrná hmotnost obsahu. Hmotnost nejvýše dvou obsahů se odlišuje o více než 10 % od průměrné hmotnosti a hmotnost žádného obsahu se neliší o více než 20 % od průměrné hmotnosti.

Dávkované nosní spreje ve formě roztoků vyhovují následující zkoušce. Odstříkne se jedna dávka do odpadu, čeká se nejméně 5 s a odstříkne se další dávka. To se opakuje ještě třikrát. Zváží se hmotnost celé nádoby, odstříkne se jedna dávka a opět se zváží nádoba. Vypočítá se rozdíl těchto dvou hmotností. Postup se opakuje s dalšími devíti nádobami a vypočítá se průměrná hmotnost dávky. Hmotnost nejvýše dvou dávek se odlišuje o více než 25 % od průměrné hmotnosti dávky a hmotnost žádné dávky se neodlišuje o více než 35 % od průměrné hmotnosti dávky.

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Nosní kapky ve formě suspenzí nebo emulzí vyhovují následující zkoušce. Stanoví se jednotlivé obsahy při důkladném vyprázdnění obalů. Obsahy vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost.

**Stejnoměrnost podané dávky.** Dávkované nosní spreje, jež jsou suspenzemi nebo emulzemi, vyhovují následující zkoušce. Použije se sběrné zařízení schopné kvantitativně zachytit dávku z aplikačního zařízení. Nádobka se protřepává po dobu 5 s a jedna dávka se odstříkne do odpadu. Vyčká se nejméně 5 s, protřepává se opět 5 s a dávka se odstříkne. Tento postup se opakuje ještě třikrát. Po 2 s se vstříkne rozprašovacím zařízením jedna dávka nosního spreje do sběrného zařízení. Pomocí následných výplachů se získá celá dávka ze sběrného zařízení a stanoví se obsah léčivé látky v jedné dávce. Tento postup se opakuje u dalších 9 nádob.

Není-li předepsáno a schváleno jinak, přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže nejvýše jeden obsah jedné dávky je mimo rozmezí 75 % až 125 % průměrného obsahu a žádný obsah jedné dávky není mimo rozmezí 65 % až 135 % průměrného obsahu jedné dávky.

Jsou-li dva nebo tři jednotlivé obsahy mimo rozmezí 75 % až 125 %, avšak jsou v mezích 65 % až 135 %, opakuje se zkouška s dalšími 20 nádobami. Přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže nejvýše tři jednotlivé obsahy z celkových třiceti jsou mimo rozmezí 75 % až 125 % a žádný není mimo rozmezí 65 % až 135 % průměrného obsahu jedné dávky.

## Pulveres nasales

### Zásypy do nosu

*Synonymum.* Nosní prášky

Jsou určeny k insuflaci do nosní dutiny pomocí vhodného zařízení.

Zásypy do nosu vyhovují požadavkům uvedeným v článku *Pulveres adspersorii*.

Velikost částic je taková, aby jejich usazování bylo omezeno na nosní dutinu, a velikost částic se ověřuje vhodnou metodou.

## Praeparata nasalia semisolidia

### Polotuhé nosní přípravky

Vyhovují požadavkům uvedeným v článku *Unguenta*.

Obaly jsou upraveny k podání přípravku na místo aplikace.

## Lotiones nasales

### Nosní omývadla

Jsou to obvykle vodné roztoky určené k čištění nosních dutin.

Přípravky pro aplikaci na poraněné části nebo před chirurgickým zákrokem jsou sterilní.

### Zkoušení

**Využitelná hmotnost nebo objem** (2.9.28). Nosní omývadla dodaná v jednodávkovém obalu vyhovují zkoušce.

## Styli nasales

### Nosní tyčinky

Vyhovují požadavkům uvedeným v článku *Styli*.

---

## Ocularia

### Oční přípravky

*Synonymum.* Ophthalmica



2001

Jsou to sterilní tekuté, polotuhé nebo tuhé přípravky určené k podání na oční bulvu a spojivku nebo k vložení do spojivkového vaku.

Obaly pro oční přípravky, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí *Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části)* a *Obaly (3.2 a příslušné části)*.

Rozlišuje se několik druhů očních přípravků:

- oční kapky,
- oční vody,
- prášky pro oční kapky a oční vody,
- polotuhé oční přípravky,
- oční inzerty.

### Výroba

Při vývoji očního přípravku obsahujícího protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady k uspokojení oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení spolu s kritérii pro posouzení ochranných vlastností v daném složení přípravku je popsána ve statí *Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3)*.

Oční přípravky se vyrábějí za použití materiálů a metod určených k zajištění sterility a zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; odpovídající doporučení jsou ve statí *Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1)*.

Při výrobě očních přípravků obsahujících dispergované částice se využívají měření k zajištění vhodné a kontrolované velikosti částic pro určené použití.

### Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost** (2.9.6). Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové oční přípravky s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost

jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Jednodávkové oční přípravky vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

**Sterilita (2.6.1).** Oční přípravky vyhovují zkoušce na sterilitu. Odděleně dodávané aplikátory rovněž vyhovují zkoušce na sterilitu. Aplikátor se vyjme za aseptických podmínek z jeho obalu a přenese se do nádoby s živným roztokem tak, že se celý smočí. Inkubace a hodnocení jsou popsány ve zkoušce na sterilitu.

**Využitelná hmotnost nebo objem (2.9.28).** Tekuté a polotuhé oční přípravky dodané v jednodávkovém obalu vyhovují zkoušce.

## Uchovávání

Není-li předepsáno jinak, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvedou názvy všech protimikrobních přísad.

## Oculoguttae

### Oční kapky

Jsou to sterilní vodné nebo olejové roztoky nebo suspenze, obsahující jednu nebo více léčivých látek, určené ke vkapávání do oka.

Oční kapky mohou obsahovat pomocné látky, např. k úpravě osmotického tlaku nebo viskozity, k úpravě nebo stabilizaci pH, zvýšení rozpustnosti účinných látek nebo ke stabilizaci přípravku. Tyto pomocné látky neovlivňují nepříznivě léčebný účinek přípravku a v použitých koncentracích nejsou příčinou přílišné místní dráždivosti.

Vodné oční přípravky dodávané ve vícedávkových obalech obsahují vhodné protimikrobní přísady ve vhodné koncentraci, kromě případu, kdy samotný přípravek má přiměřené protimikrobní vlastnosti. Použité protimikrobní přísady jsou kompatibilní se všemi dalšími složkami přípravku a jsou účinné po celou dobu použitelnosti očních kapek.

Jsou-li oční kapky předepsány bez protimikrobních přísad, dodávají se, kde je to vhodné, v jednodávkových obalech. Oční kapky určené k použití při chirurgických výkonech jsou bez protimikrobních přísad a jsou dodávány v jednodávkových obalech.

Oční kapky ve formě roztoku jsou při vizuální kontrole prakticky čiré a prakticky bez částic.

Oční kapky ve formě suspenze mohou vykazovat sediment, který je snadno roztřepatelný; takto vzniklá suspenze je natolik stabilní, aby umožňovala podání správné dávky.

Vícedávkové přípravky jsou dodávány v obalech umožňujících podání ve formě jednotlivých kapek. Pokud není předepsáno a schváleno jinak, lahvičky obsahují nejvýše 10 ml přípravku.

## Zkoušení

**Velikost částic.** Oční kapky ve formě suspenze vyhovují následující zkoušce. Nanese se vhodné množství suspenze do měřicí cely nebo mikropipetou na podložní sklíčko a prohlédne se pod mikroskopem oblast odpovídající 10  $\mu\text{g}$  pevné fáze. Z praktických důvodů se doporučuje nejdříve prohlédnout celý vzorek při menším zvětšení (např. 50 $\times$ ) a nalézt částice větší než 25  $\mu\text{m}$ . Tyto částice se pak změří při větším zvětšení (např. 200 $\times$  až 500 $\times$ ). Pro každých 10  $\mu\text{g}$  pevné účinné látky má nejvíce dvacet částic největší průměr větší než 25  $\mu\text{m}$  a nejvýše dvě z těchto částic mají největší průměr větší než 50  $\mu\text{m}$ . Žádná částice nemá největší průměr větší než 90  $\mu\text{m}$ .

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- kde je to vhodné, název přidané protimikrobní přísady,

- na vícedávkových obalech doba od prvního otevření, po níž se již přípravek nesmí používat. Tato doba nesmí být delší než 4 týdny, není-li předepsáno a schváleno jinak.

## Aquae ophthalmicae

### Oční vody

Jsou to sterilní vodné roztoky určené k mytí nebo koupání očí nebo k napuštění očních obkladů.

Oční vody mohou obsahovat pomocné látky, např. k úpravě osmotického tlaku nebo viskozity přípravku nebo k úpravě a stabilizaci pH. Tyto pomocné látky nemají nepříznivě ovlivňovat léčebný účinek přípravku nebo v používaných koncentracích být příčinou přílišné místní dráždivosti.

Oční vody dodávané ve vícedávkových obalech obsahují vhodné protimikrobní přísady ve vhodné koncentraci, kromě případu, kdy samotný přípravek má přiměřené protimikrobní vlastnosti. Použité protimikrobní přísady jsou kompatibilní s dalšími složkami přípravku a jsou účinné po celou jeho dobu použitelnosti.

Jsou-li oční vody předepsány bez protimikrobních přísad, dodávají se v jednodávkových obalech. Oční vody určené k použití při chirurgických výkonech nebo k ošetření formou první pomoci jsou bez protimikrobních přísad a jsou dodávány v jednodávkových obalech.

Oční vody vizuálně kontrolované jsou prakticky čiré a prakticky bez částic.

Nádoba pro vícedávkové přípravky neobsahuje více než 200 ml oční vody, pokud není předepsáno a schváleno jinak.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- u jednodávkových přípravků, že obsah je určen jen pro jeden případ potřeby,
- u vícedávkových přípravků doba od prvního otevření, po níž se již nesmí přípravek používat.

Tato doba nesmí být delší než 4 týdny, není-li předepsáno a schváleno jinak.

## Pulveres pro oculoguttae et aquae ophthalmicae

### Prášky pro oční kapky a oční vody

Prášky pro přípravu očních kapek a očních vod jsou dodávány v suchém sterilním stavu tak, aby mohly být před aplikací rozpuštěny nebo dispergovány v odpovídající tekutině. Mohou obsahovat pomocné látky k usnadnění rozpouštění nebo dispergace, k zabránění shlukování, k úpravě osmotického tlaku nebo viskozity, k úpravě nebo stabilizaci pH nebo ke stabilizaci přípravku.

Po rozpuštění nebo dispergaci vyhovují požadavkům na perorální kapky nebo oční vody.

### Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové prášky pro oční kapky a oční vody s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Jednodávkové prášky pro oční kapky a oční vody vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

## Ocularia semisolida

### Polotuhé oční přípravky

Jsou to sterilní oční masti, krémy nebo gely určené k aplikaci na spojivku. Obsahují jednu nebo více léčivých látek rozpuštěných nebo dispergovaných ve vhodném základu. Mají homogenní vzhled.

Polotuhé oční přípravky vyhovují požadavkům článku *Unguenta*. Základ nemá dráždit spojivku.

Polotuhé oční přípravky jsou baleny v malých sterilizovaných stlačitelných tubách, uzavřených nebo doplněných aplikačním nástavcem. Obsah přípravku není větší než 5 g. Tuby jsou dobře uzavřeny k zabránění mikrobiální kontaminace. Polotuhé oční přípravky lze rovněž balit do vhodných jednodávkových obalů. Obaly nebo hubice tub jsou tvaru, který usnadňuje podání bez kontaminace. Uzavření tub je zabezpečeno.

### Zkoušení

**Velikost částic.** Polotuhé oční přípravky, obsahující dispergované tuhé částice vyhovují následující zkoušce. Množství přípravku odpovídající nejméně 10 µg pevné fáze se rozetře do tenké vrstvy a pod mikroskopem se pozoruje celá oblast vzorku. Z praktických důvodů se doporučuje nejdříve prohlédnout vzorek při menším zvětšení (např. 50×) a nalézt částice větší než 25 µm. Tyto částice se pak změní při větším zvětšení (např. 200× až 500×). Každých 10 µg pevné účinné látky může mít nejvýše dvacet částic s největším průměrem přesahujícím 25 µm a nejvýše dvě z těchto částic smí mít největší průměr větší než 50 µm. Žádná částice nesmí mít největší průměr větší než 90 µm.

## Oculoinserta

### Oční inzerty

Jsou to sterilní, tuhé nebo polotuhé přípravky vhodných rozměrů a tvaru určené k podání do spojivkového vaku a mající účinek na oko. Obecně jsou tvořeny zásobníkem účinné látky vsazeným do matrice nebo spojeným s membránou řídicí rychlost uvolňování. Léčivá látka, která je více nebo méně rozpustná ve fyziologických tekutinách, se uvolňuje po stanovenou dobu.

Oční inzerty jsou dodávány jednotlivě ve sterilních obalech.

### Výroba

Při výrobě očních inzertů jsou zajištěny vhodné disoluční parametry potřebnými prostředky.

### Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Oční inzerty, kde je to vhodné, vyhovují zkoušce A na obsahovou stejnoměrnost.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- kde je to vhodné, celkové množství léčivé látky v inzertu,
- kde je to vhodné, uvolňená dávka za jednotku času.

206. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, článek Parenteralia zní:

”

## Parenteralia<sup>1)</sup>

### Parenterální přípravky



2001

*Požadavky tohoto článku se nevztahují nutně na přípravky vyrobené z lidské krve, imunologické přípravky, radiofarmaka nebo protetické implantáty. Zvláštní požadavky mohou mít veterinární přípravky, a to podle druhů zvířat, pro něž je přípravek určen.*

Jsou to sterilní přípravky určené k podání do lidského nebo zvířecího těla injekcí, infuzí nebo implantací.

U parenterálních přípravků se mohou používat pomocné látky, např. k izotonizaci s krví, úpravě pH, zlepšení rozpustnosti, ke konzervaci léčiv nebo k zajištění vhodných protimikrobních vlastností, ale bez nepříznivého ovlivnění požadovaného léčebného účinku nebo v použité koncentraci bez toxicity a nevhodné místní dráždivosti.

Obaly pro parenterální přípravky jsou vyrobeny, pokud možno, z materiálů dostatečně transparentních, aby byla možná vizuální kontrola obsahu, s výjimkou obalů pro transplantáty a jiných předepsaných a schválených případů.

Obaly pro parenterální přípravky, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Parenterální přípravky jsou dodávány ve skleněných obalech (3.2.1) nebo jiných obalech, např. plastických (3.2.2, 3.2.2.1 a 3.2.9), a v předem naplněných injekčních stříkačkách. Vzduchotěsnost obalů je zajištěna vhodným způsobem. Uzávěry jsou těsné, zabraňující kontaminaci mikroorganismy nebo jinými znečištěními a dovolující obvykle odebrání části nebo celého obsahu bez odstranění uzávěru. Plastické materiály nebo elastomery (3.2.9) tvořící uzávěry jsou dostatečně tuhé a pružné, aby dovolily průnik jehly při co nejmenším odlučování částic. Uzávěry vícedávkových obalů jsou dostatečně pružné, aby zajistily uzavření vpichu po vytažení jehly.

Rozlišuje se několik druhů parenterálních přípravků:

- injekce,
- infuze,
- koncentráty pro injekce nebo infuze,
- prášky pro injekce nebo infuze,
- implantáty.

### Výroba

Při vývoji parenterálního přípravku obsahujícího protimikrobní přísadu se prokazuje účinnost této přísady k uspokojení oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení spolu s kritérii pro posouzení konzervačních vlastností v daném složení přípravku je popsána ve statí Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3).

Parenterální přípravky jsou vyráběny a připravovány za použití materiálů a metod určených k zajištění sterility a zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; odpovídající doporučení jsou ve statí Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1).

Voda použitá k výrobě parenterálních přípravků vyhovuje požadavkům vody na injekci nerozplněné v článku *Aqua pro iniectione*.

### Zkoušení

**Hodnocení kontaminace částicemi pod hranicí viditelnosti (2.9.19).** U přípravků pro použití u člověka roztoky pro parenterální infuze nebo roztoky pro injekce v obalech se jmenovitým objemem větším než 100 ml vyhovují této zkoušce.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 13, 1, 76 (2001). Závazné od 1. 1. 2001

U přípravků pro veterinární použití roztoky pro parenterální infuze nebo roztoky pro injekce v obalech se jmenovitým objemem větším než 100 ml a s obsahem odpovídajícím dávce větší než 1,4 ml/kg/den vyhovují této zkoušce.

U přípravků, u nichž je na obalu uvedeno, že se použijí s koncovým filtrem, se tato zkouška nepožaduje.

**Sterilita (2.6.1).** Vyhovují zkoušce na sterilitu.

## Uchovávání

Ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- název a koncentrace přidané protimikrobní přísady,
- kde je to vhodné, že roztok se použije s koncovým filtrem,
- kde je to vhodné, že přípravek je prostý bakteriálních endotoxinů/pyrogenních látek.

## Iniectiones

### Injekce

*Synonymum.* Injectabilia

Jsou to sterilní roztoky, emulze nebo suspenze. Připravují se rozpouštěním, emulgováním nebo suspendováním léčivé látky a všech dalších přidávaných látek ve vodě na injekci (*Aqua pro iniectione*), ve vhodné sterilní nevodné tekutině nebo ve směsi těchto vehikulí.

Injekční roztoky zkoušené za vhodných podmínek viditelnosti jsou čiré a prakticky prosté částic.

Injekční emulze nevykazují oddělování fází. Injekční suspenze mohou obsahovat sediment, který je snadno rozřepatelný; takto vzniklá suspenze je natolik stabilní, aby bylo umožněno odebrání správné dávky.

*Vicedávkové přípravky.* Vicedávkové vodné injekce obsahují vhodnou protimikrobní přísadu ve vhodné koncentraci, kromě případu, kdy samotný přípravek má přiměřené protimikrobní vlastnosti. Je-li parenterální přípravek dodáván ve vicedávkovém obalu, jsou vyžadována opatření při jeho podávání a zvláště při uchovávání mezi jednotlivými odběry dávek.

*Protimikrobní přísady.* Vodné přípravky připravované za aseptických podmínek a ty, které nemohou být sterilizovány v lahvičkách, mohou obsahovat vhodnou protimikrobní přísadu ve vhodné koncentraci.

Protimikrobní přísada se nepřidává, jestliže:

- objem podávaný v jednotlivé dávce je vyšší než 15 ml, není-li uvedeno a schváleno jinak,
- přípravek je podáván cestami, kde z lékařských důvodů není protimikrobní přísada přijatelná, např. při aplikaci intracisternální, epidurální, intratekální nebo jinou cestou, při níž se injekce dostane do styku s mozkomíšním mokem, nebo při podání intra- a retrokulárním.

Tyto přípravky jsou dodávány v jednodávkových obalech.

## Výroba

U injekcí, jež jsou emulzemi nebo suspenzemi, výrobce prokáže oprávněné autoritě, že velikost dispergovaných částic je vhodně kontrolována s ohledem na způsob použití přípravku.

*Jednodávkové přípravky.* Skutečný objem injekční tekutiny v jednodávkovém obalu je dostatečný pro nasátí a podání jmenovité dávky běžnou technikou.

## Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové injekční suspenze s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce A na obsahovou stejnoměrnost

jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají uvedeným podmínkám.

**Bakteriální endotoxiny, pyrogenní látky.** *Provede se zkouška na bakteriální endotoxiny (2.6.14) nebo, je-li předepsáno a schváleno, zkouška na pyrogenní látky (2.6.8).*

*Přípravky pro použití u člověka.* Je-li podávaný objem jedné dávky 15 ml nebo větší, přípravek vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny (2.6.14) nebo zkoušce na pyrogenní látky (2.6.8).

*Přípravky pro veterinární použití.* Je-li podávaný objem jedné dávky 15 ml nebo větší a odpovídá dávce 0,2 ml na kilogram hmotnosti, přípravek vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny (2.6.14) nebo zkoušce na pyrogenní látky (2.6.8).

*Ostatní přípravky.* Je-li v označení uvedeno, že přípravek je prostý bakteriálních endotoxinů (nebo pyrogenních látek), vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny (2.6.14) nebo zkoušce na pyrogenní látky (2.6.8).

## Infusiones

### Infuze

*Synonyma.* Infundibilia, Infusiones intravenosae, intravenózní infuze

Jsou to sterilní vodné roztoky nebo emulze s vodou jako kontinuální fází, obvykle izotonické s krví. Jsou určeny hlavně k podávání ve velkých objemech. Infuze neobsahují žádné protimikrobní přísady.

Infuzní roztoky zkoušené za vhodných podmínek viditelnosti jsou čiré a prakticky prosté částic.

Infuzní emulze nevykazují oddělování fází.

### Výroba

U infuzí, jež obsahují dispergované částice, výrobce prokáže oprávněné autoritě, že velikost těchto částic je vhodně kontrolována s ohledem na způsob užití přípravku.

**Využitelný objem infuzí (2.9.17).** Skutečný objem infuzní tekutiny v obalu je dostatečný pro nasátí a podání jmenovité dávky běžnou technikou.

### Zkoušení

**Bakteriální endotoxiny, pyrogenní látky.** Přípravky vyhovují zkoušce na bakteriální endotoxiny (2.6.14), nebo je-li předepsáno a schváleno, zkoušce na pyrogenní látky (2.6.8). U zkoušky na pyrogenní látky se vstříkuje 10 ml tekutiny na kilogram hmotnosti králíka, není-li předepsáno a schváleno jinak.

## Concentrata pro iniectionibus aut infusionibus

Koncentrované roztoky pro injekce nebo infuze

*Synonymum.* Parenterální přípravky určené k ředění

Jsou to sterilní roztoky určené k ředění pro injekce nebo pro infuze. Před podáním se ředí předepsaným objemem předepsané kapaliny. Po zředění vyhovují požadavkům na injekce nebo infuze.

### Zkoušení

**Bakteriální endotoxiny, pyrogenní látky.** Přípravky po zředění na příslušný objem, vyhovují požadavkům předepsaným pro injekce nebo infuze.



## **Pulveres pro iniectionibus aut infusionibus**

### **Prášky pro injekce nebo infuze**

*Synonyma.* Pulveres parenterales, prášky pro parenterální použití

Jsou to pevné sterilní látky dodávané v obalech, v nichž se po protřepání s předepsaným objemem předepsané sterilní tekutiny rychle vytvoří buď čiré a prakticky částic prosté roztoky, nebo homogenní suspenze. Po rozpuštění nebo dispergaci vyhovují požadavkům na injekce nebo infuze.

Parenterální lyofilizáty jsou považovány za prášky pro parenterální použití.

### **Výroba**

Obsahová stejnoměrnost a hmotnostní stejnoměrnost parenterálních lyofilizátů jsou zajištěny mezioperační kontrolou množství roztoku před lyofilizací.

### **Zkoušení**

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, prášky pro injekce nebo infuze s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti nebo s celkovou jednotkovou hmotností rovnou nebo menší než 40 mg vyhovují zkoušce A na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Prášky pro injekce nebo infuze vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost pevných jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny léčivé látky v přípravku, zkouška na hmotnostní stejnoměrnost se nevyžaduje.

**Bakteriální endotoxiny, pyrogenní látky.** Přípravky po rozpuštění nebo dispergaci v příslušném objemu tekutiny vyhovují požadavkům předepsaným pro injekce nebo infuze.

### **Označování**

V označení na obalu se uvede návod na přípravu injekcí a infuzí.

## **Implantata**

### **Implantáty**

Jsou to sterilní pevné přípravky o velikosti a tvaru vhodném pro parenterální implantaci, umožňující dlouhodobé uvolňování léčivé látky (léčivých látek). Jsou dodávány výhradně jednotlivě ve sterilních obalech.

207. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, články Praeadminixta ad alimenta medicata ad usum veterinarium, Praeparata ad irrigationem a Praeparata homeopathica znějí:

”

---

## **Praeadminixta ad alimenta medicata ad usum veterinarium**



2001

Premixy pro medikaci krmiva k veterinárnímu použití

*Synonymum.* Medikovaný krmný doplněk pro veterinární použití

---

Jsou to směsi jedné nebo více léčivých látek obvykle ve vhodném vehikulu připravované k usnadnění podávání léčivých látek zvířatům. Používají se výhradně k přípravě medikovaných krmiv prostým smícháním s dalšími látkami.

Premixy bývají v granulované nebo práškové formě. Jsou sypké, případně shluky se rozpadají při normální manipulaci. Velikost částic a jiné vlastnosti premixu jsou takové, že zajišťují rovnoměrné rozptýlení léčivé látky (látek) v podávaném krmivu.

### **Výroba**

Není-li předepsáno a schváleno jinak, koncentrace léčivé směsi v podávaném krmivu je nejméně 0,5 %.

### **Zkoušení**

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 15,0 %, není-li předepsáno a schváleno jinak. 3,000 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

### **Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech.

### **Označování**

V označení na obalu se uvede:

- druh a kategorie zvířat, jimž je premix určen,
- návod na přípravu medikovaného krmiva z premixu a základního krmiva,
- ochranná lhůta mezi ukončením podávání medikovaného krmiva a porážkou zvířat ke konzumaci lidmi.

---

## **Praeparata ad irrigationem**



2001

Přípravky pro výplachy

*Synonymum.* Praeparationes ad irrigationem

---

Jsou to sterilní vodné velkoobjemové přípravky určené pro výplachy tělních dutin, otevřených ran a povrchů, např. při chirurgických zákrocích.

Připravují se rozpuštěním jedné nebo více léčivých látek, elektrolytů nebo osmoticky aktivních látek ve vodě, která vyhovuje požadavkům článku *Aqua pro iniectio*, nebo se jedná pouze o vodu uvedené jakosti. Ve druhém případě se označují jako voda pro výplachy.

Roztoky pro výplachy jsou obvykle izotonické s krví a zkušeny za vhodných podmínek viditelnosti jsou čiré a prakticky prosté částic.

Přípravky pro výplachy se dodávají v jednodávkových obalech. Obaly a uzávěry vyhovují požadavkům na obaly pro parenterální přípravky (3.2.1 a 3.2.2), nesmí se však s nimi shodovat tvarem, aby nemohlo dojít k podání přípravku pro výplachy parenterální cestou.

### Výroba

Přípravky pro výplachy se připravují za použití materiálů a metod určených k zajištění sterility a zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; odpovídající doporučení jsou ve stati Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1).

### Zkoušení

**Využitelná hmotnost nebo objem** (2.9.28). Přípravky pro výplachy dodané v jednodávkovém obalu vyhovují zkoušce **Sterilita** (2.6.1). Vyhovují zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14). Nejvýše 0,5 m.j. endotoxinu v mililitru.

**Pyrogenní látky** (2.6.8). Přípravky, u nichž nelze použít validovanou zkoušku na bakteriální endotoxiny, vyhovují zkoušce na pyrogenní látky, při níž se vstříkne 10 ml přípravku na kilogram hmotnosti králíka, pokud není předepsáno a schváleno jinak.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- že přípravek není určen k injekčnímu podání,
- že přípravek je určen jen k jednorázovému použití a nespotebovaná část přípravku se odstraní.

---

## Praeparata homeopathica

Homeopatické přípravky

*Synonymum.* Praeparationes homoeopathicae



2001

---

Vyrábí se z látek, produktů nebo přípravků nazývaných výchozí suroviny pro výrobu za použití homeopatických postupů. Označují se obvykle latinským názvem výchozí suroviny a stupněm zředění.

### Suroviny

Suroviny pro výrobu homeopatických přípravků jsou rostlinného, chemického, minerálního nebo živočišného původu.

U surovin živočišného původu musí být prokázáno, že neobsahují patogenní agens. Suroviny rostlinného nebo živočišného původu mohou být použity v čerstvém nebo sušeném stavu. Kde je to vhodné, může být čerstvý materiál uchováván hluboce zmrazený.

V oprávněných a schválených případech může být k přepravním a skladovacím účelům čerstvý materiál uchováván v lihu 96% za podmínky, že veškerý materiál, včetně lihu 96%, se použije pro další zpracování.

Suroviny vyhovují požadavkům lékopisných článků.

### Vehikula, nosiče

Jsou to pomocné látky použité k přípravě konkrétních výchozích surovin pro výrobu nebo k potenciaci, např. čištěná voda, lžh o vhodné koncentraci, glycerol a laktosa.

Vehikula vyhovují požadavkům lékopisných článků.

## Výchozí suroviny pro výrobu

Jsou to látky, produkty nebo přípravky použité jako výchozí materiály pro výrobu homeopatických přípravků. Výchozími surovinami pro výrobu jsou obvykle: matečná tinktura nebo glycerolový výluh z látek rostlinného nebo živočišného původu, nebo jednotlivá látka ze surovin chemického nebo minerálního původu.

### Matečné tinktury

Jsou to tekuté přípravky získávané macerací surovin rostlinného nebo živočišného původu ve vhodném vehikulu. Mohou se připravit také z rostlinných šťáv s přidáním nebo bez přidání vehikula. Matečná tinktura se označuje symboly "MT" nebo "θ".

### Glycerolové výluhy

Jsou to tekuté přípravky získávané ze surovin rostlinného nebo živočišného původu za použití glycerolu, směsi glycerolu a lihu vhodné koncentrace nebo směsi glycerolu a roztoku chloridu sodného vhodné koncentrace.

### Potenciace

Zředění a roztěry se získávají z výchozích surovin pro výrobu potenciací podle výrobních homeopatických postupů; pro tekuté přípravky to jsou postupná ředění a třepání, pro pevné přípravky to jsou postupné vhodné roztěry.

Potenciační kroky jsou obvykle jeden z následujících:

- 1 díl výchozí suroviny pro výrobu a 9 dílů vehikula; lze je označit jako "D" nebo "DH" nebo "X" (desetinné, decimální),
- 1 díl výchozí suroviny pro výrobu a 99 dílů vehikula; lze je označit jako "C" nebo "CH" (setinné, centezimální).

Počet potenciačních kroků určuje stupeň ředění. Např. symboly "D3" nebo "3 DH" nebo "3X" znamenají tři decimální kroky a symboly "C3" nebo "3 CH" nebo "3C" znamenají tři centezimální kroky.

### Lékové formy

Léková forma homeopatického přípravku vyhovuje příslušnému článku lékové formy v lékopise a následujícím požadavkům:

- u lékových forem pro homeopatické účely jsou za "léčivé látky" považována "zředění nebo roztěry homeopatických výchozích surovin",
- tyto lékové formy jsou připraveny za použití vhodných pomocných látek,
- zkouška Obsahová stejnoměrnost se neprovádí; avšak, za určitých okolností se vyžaduje.

### Definice homeopatické lékové formy "Granule"

Granule pro homeopatické použití jsou přípravky pevné konzistence, připravené ze sacharosy, laktosy nebo jiných vhodných pomocných látek. Mohou se připravit též impregnací předem připravených granulí jedním nebo více zředěními homeopatických výchozích surovin nebo postupným přidáváním těchto pomocných látek a přidáváním jednoho nebo více zředění homeopatických výchozích surovin. Jsou určeny k perorálnímu nebo sublinguálnímu podání.

### Definice homeopatické lékové formy "Tablety"

Tablety pro homeopatické účely jsou přípravky ze sacharosy, laktosy nebo jiných vhodných pomocných látek, které vyhovují požadavkům článku *Tabulettae*. Mohou být také vyrobeny impregnací předem vylisovaných tablet jedním nebo více zředěními homeopatických výchozích surovin. Předem vylisované tablety pro impregnaci se připraví ze sacharosy, laktosy nebo jiných vhodných pomocných látek, které vyhovují požadavkům článku *Tabulettae*. Jsou určeny k perorálnímu nebo sublinguálnímu podání.

208. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, články Praeparata intramammariae ad usum veterinarium a Praeparata pharmaceutica in vasis cum pressu znějí:

”

## Praeparata intramammariae ad usum veterinarium

Intramamární přípravky pro veterinární použití

*Synonymum.* Praeparetions intramammariae ad usum veterinarium



Jsou to sterilní přípravky určené k zavedení do mléčné žlázy strukovými kanálky. Dělí se na dva hlavní druhy:

- přípravky k léčbě a prevenci infekcí zvířat v laktaci,
- přípravky k léčbě a prevenci infekcí zvířat na konci laktace nebo mimo laktaci (při zaprahování nebo při stání na suchu).

Intramamární přípravky pro veterinární použití jsou roztoky, emulze, suspenze nebo polotuhé přípravky obsahující jednu nebo více léčivých látek ve vhodném vehikulu. Mohou obsahovat pomocné látky, jako jsou stabilizátory, emulgátory, látky napomáhající tvorbě suspenze a zvyšující viskozitu. Suspenze mohou obsahovat sediment, který lze snadno roztřepat. V emulzích se mohou oddělovat fáze, dají se však snadno protřepáním znovu homogenizovat.

Pokud není předepsáno a schváleno jinak, jsou intramamární přípravky pro veterinární použití plněny do jednodávkových obalů upravených k zavedení do jednoho strukového kanálku zvířete.

Jsou-li dodávány ve vícedávkových obalech, obsahují vodné přípravky vhodnou protimikrobní přísadu ve vhodné koncentraci, kromě případu, kdy samotný přípravek má přiměřené protimikrobní vlastnosti. Pro podávání a pro uchování přípravku mezi aplikacemi musí být stanovena bezpečnostní opatření.

Obaly pro intramamární přípravky k veterinárnímu použití, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

### Výroba

Při vývoji intramamárního přípravku pro veterinární použití obsahujícího protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady k uspokojení oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení spolu s kritérii pro posouzení konzervačních vlastností v daném složení přípravku je popsána ve statí Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3).

Intramamární přípravky pro veterinární použití jsou vyráběny za použití materiálů a metod určených k zajištění sterility a zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; odpovídající doporučení jsou ve statí Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1).

Při výrobě intramamárních přípravků pro veterinární použití obsahujících dispergované částice se využívají měření k zajištění vhodné a kontrolované velikosti částic pro určené použití.

### Zkoušení

**Využitelná hmotnost nebo objem.** Podle pokynů v návodu se vytlačí co nejvíce obsah z deseti obalů. Průměrná hmotnost nebo objem se neliší o více než 10 % od deklarované hmotnosti nebo objemu.

**Sterilita (2.6.1).** Intramamární přípravky pro veterinární použití vyhovují zkoušce na sterilitu. Použije se metoda membránové filtrace nebo, je-li předepsáno a schváleno, přímé očkovaní živné půdy. Obsah deseti obalů se vytlačí a pečlivě smíchá. Pro každou živnou půdu se použije 0,5 g až 1,0 g (nebo 0,5 ml až 1,0 ml) homogenizovaného vzorku.

### Uchovávání

Ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- název léčivé látky (látek) a její hmotnost nebo počet mezinárodních jednotek, které lze normálním způsobem z obalu získat a využít,
- údaj, zda je přípravek určen pro použití u zvířat v laktaci, nebo u zvířat mimo laktaci,
- v případě vícedávkových obalů názvy všech protimikrobních přísad.

## Praeparata pharmaceutica in vasis cum pressu

Léčivé přípravky v tlakovém obalu

*Synonymum.* Praeparationes pharmaceuticae in vasis cum pressu, léčivé spreje



*Doplňující požadavky na přípravky v tlakovém obalu lze nalézt, podle typů, v dalších obecných člácích, např. Inhalanda, Liquida ad usum dermicum, Pulveres adpersorii, Nasalia a Auricularia.*

Dodávají se ve speciálních nádobách pod tlakem plynu a obsahují jednu nebo více léčivých látek. Přípravky se uvolňují z nádoby vhodným ventilem ve formě aerosolu (disperze tuhých nebo kapalných částic v plynu, přičemž velikost těchto částic je přizpůsobena zamýšlenému použití) nebo jako tekutý nebo polotuhý proud, např. pěna. Potřebný tlak se vytváří vhodnými hnacími plyny (propelenty). Přípravky jsou tvořeny roztokem, emulzí nebo suspenzí a jsou určeny k místnímu podání na kůži nebo mukózní membrány tělních dutin nebo k inhalaci. Jako vhodné pomocné látky se používají např. rozpouštědla, solubilizátory, emulgátory, suspenzní činidla a mazadla pro ventily jako prevence proti ucpání.

*Propelenty.* Jsou buď tlakem zkapalněné nebo stlačené plyny, nebo kapaliny s nízkou teplotou varu. Zkapalněné plyny jsou např. halogenované uhlovodíky (zvláště fluoroderiváty) a uhlovodíky s nízkou molekulovou hmotností (např. propan a butan). Stlačené plyny jsou např. oxid uhličitý, dusík a oxid dusný.

Aby se dosáhlo optimálních vlastností roztoku a požadovaného tlaku, dávkování a sprejových charakteristik, lze použít směsí propelentů.

*Obaly.* Používají se nádoby těsné a odolné vůči vnitřnímu přetlaku a vyrobené z materiálů kompatibilních s jejich obsahem. Materiály jsou kov, sklo, plasty nebo jejich kombinace. Skleněné nádoby jsou chráněny plastickým obalem.

*Rozprašovací zařízení.* Ventil, pokud se právě nepoužívá, udržuje nádobu dobře uzavřenou, při použití reguluje dávkování obsahu. Sprejové charakteristiky jsou dány typem rozprašovacího zařízení, zvláště rozměry, počtem a umístěním výstupních otvorů. Některé ventily umožňují kontinuální podávání, jiné (dávkovací ventily) uvolňují definované množství přípravku při každém stisknutí tlačítka rozprašovače.

Různé materiály ventilu, které jsou ve styku s obsahem nádoby, jsou s ním kompatibilní.

## Požadavky na léčivé přípravky v tlakových obalech

Tyto přípravky jsou opatřeny aplikačním zařízením vhodným pro zamýšlené podání.

Zvláštní požadavky lze mít na výběr propelentů, velikost částic a jednotlivou dávku uvolněnou dávkovacími ventily.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- návod k použití,
- všechna bezpečnostní upozornění,
- u nádoby s dávkovacím ventilem množství léčivé látky v jednom vystříknutí.

209. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, články Pulveres adpersorii, Pulveres perorales a Rectalia znějí:

”

## Pulveres adpersorii

### Zásypy

*Synonyma.* Pulveres ad usum dermicum, topické prášky



2001

*Kde je předepsáno a schváleno, požadavky tohoto článku se nevztahují na zásypy určené pro veterinární použití.*

Jsou to přípravky tvořené pevnými sypkými suchými částicemi různého stupně rozdrobnění. Obsahují jednu nebo více léčivých látek s pomocnými látkami nebo bez nich, a je-li potřeba, barviva schválená oprávněnou autoritou.

Zásypy jsou jednodávkové (dělené) nebo vícedávkové (nedělené) přípravky. Jsou bez větších shluků částic. Zásypy určené na otevřené rány nebo na vážně poškozenou kůži jsou sterilní.

Vícedávkové zásypy lze dodávat v obalech se sypacím víčkem, nádobách s mechanickým rozprašovačem nebo v tlakových nádobkách.

Zásypy balené v tlakových nádobkách vyhovují požadavkům článku *Praeparata pharmaceutica in vasis cum pressu.*

Obaly pro zásypy, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí *Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části)* a *Obaly (3.2 a příslušné části)*.

### Výroba

Při výrobě zásypů se používá vhodných způsobů k zajištění vhodné velikosti částic se zřetelem k určenému použití.

Při výrobě, balení, uchování a distribuci zásypů se používá vhodných způsobů k zajištění jejich mikrobiální čistoty; příslušná doporučení jsou ve statí *Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4)*.

Sterilní zásypy se vyrábějí za použití materiálu a metod určených k zajištění sterility a k zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; příslušná doporučení jsou ve statí *Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1)*.

### Zkoušení

**Velikost částic.** Je-li předepsáno, velikost částic zásypu se stanoví pomocí sít (2.9.12) nebo jinou vhodnou metodou.

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové zásypy s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více účinných látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Jednodávkové zásypy vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené účinné látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

**Sterilita (2.6.1).** Je-li přípravek označen jako sterilní, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- že je přípravek pro zevní užití,
- kde je to vhodné, zda je přípravek sterilní.

## Pulveres perorales

Perorální prášky



*Požadavky na prášky používané k přípravě perorálních roztoků nebo suspenzí jsou uvedeny v článku Liquida peroralia. Kde je předepsáno a schváleno, požadavky tohoto článku se nevztahují na perorální prášky určené pro veterinární použití.*

Jsou to přípravky tvořené pevnými sypkými suchými částicemi různého stupně rozdrobnění. Obsahují jednu nebo více léčivých látek s pomocnými látkami nebo bez nich, a je-li potřebné, barviva schválená oprávněnou autoritou a chuťové a aromatické přísady. Perorální prášky se podávají rozpuštěné nebo dispergované ve vodě nebo jiné vhodné tekutině nebo je lze polykat přímo. Jsou to jednodávkové (dělené) nebo vícedávkové (nedělené) přípravky.

Obaly pro perorální prášky, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části). Vícedávkové perorální prášky jsou opatřeny odměrkou umožňující podání předepsané dávky. Každá dávka děleného prášku je v samostatném obalu, např. v sáčku, papírovém váčku nebo lahvičce.

### Výroba

Při výrobě perorálních prášků se používají vhodné způsoby k zajištění vhodné velikosti částic se zřetelem k určenému použití.

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci perorálních prášků se používají vhodné způsoby k zajištění jejich mikrobiální čistoty; příslušná doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

### Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové prášky s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce B na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Dělené perorální prášky vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost pevných jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech nebo, obsahuje-li přípravek prchavé látky, ve vzduchotěsných obalech.

## Pulveres effervescentes

Šumivé prášky

*Synonymum.* Šumivé práškové směsi

Jsou to jednodávkové nebo vícedávkové přípravky obsahující kyselé látky a uhličitany nebo hydrogenuhlíčitany, které za přítomnosti vody prudce reagují za vzniku oxidu uhličitého. Jsou určeny k rozpuštění nebo dispergaci ve vodě před podáním.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.



## Rectalia

### Rektální přípravky



2001

Jsou to přípravky určené k rektální aplikaci s místním nebo systémovým účinkem nebo podávané k diagnostickým účelům.

Obaly pro rektální přípravky, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Rozlišuje se několik druhů rektálních přípravků:

- čípky,
- rektální tobolky,
- rektální roztoky, emulze a suspenze,
- prášky a tablety pro rektální roztoky a suspenze,
- polotuhé rektální přípravky,
- rektální pěny,
- rektální tampony s léčivý.

### Výroba

Při vývoji rektálního přípravku obsahujícího protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady podle požadavků oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení spolu s kritérii pro posouzení konzervačních vlastností v daném složení přípravku je popsána ve statí Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3).

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci rektálních přípravků je vhodnými způsoby zajištěna jejich mikrobiální čistota; odpovídající doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

Při výrobě polotuhých a tekutých rektálních přípravků obsahujících dispergované částice se používají měření k zajištění vhodné a kontrolované velikosti částic pro určené použití.

### Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, jednodávkové lékové formy s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce A (tablety) nebo zkoušce B (čípky, rektální tobolky) na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových přípravků. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavek zkoušky se vztahuje jen na ty látky, které odpovídají uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Pevné nebo tuhé jednodávkové lékové formy vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny přítomné léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

**Využitelná hmotnost nebo objem (2.9.28).** Tekuté a polotuhé rektální přípravky dodané v jednodávkovém obalu vyhovují zkoušce.

**Disoluce.** Použije se vhodná zkouška k prokázání příslušného uvolňování léčivé látky (látek) z pevných a tuhých jednodávkových lékových forem, např. zkouška disoluce čípků a měkkých tobolek (2.9.3). Provádí-li se zkouška disoluce, nevyžaduje se zkouška rozpadavosti.

### Označování

V označení na obalu se uvedou názvy všech protimikrobních přísad.

## Suppositoria

### Čípky

Jsou to tuhé jednodávkové přípravky. Tvarem, velikostí a konzistencí jsou vhodné pro podání do konečníku.

Čípky obsahují jednu nebo více léčivých látek dispergovaných nebo rozpuštěných ve vhodném čípkovém základu, který je rozpustný nebo dispergovatelný ve vodě nebo taje při teplotě těla. Je-li to potřebné, mohou být přidány pomocné látky, jako jsou rozpouštědla, látky s adsorpčními vlastnostmi, povrchově aktivní látky, kluzné látky, protimikrobní přísady a barviva schválená oprávněnou autoritou.

### Výroba

Čípky se připravují lisováním nebo litím. Je-li třeba, léčivá látka (léčivé látky) se rozdrobí a nechá se projít vhodným sítem. Jsou-li připravovány litím, hmota s léčivými látkami (čípkovina) se zahřátím roztaví a lije se do vhodných forem. Následným ochlazením čípky ztuhnou. Pro tento způsob přípravy jsou vhodné různé pomocné látky, jako např. tuhý tuk, makrogoly, kakaový olej a různé gelotvorné směsi tvořené např. želatinou, vodou a glycerolem.

Kde je to vhodné, stanoví se doba deformace lipofilních čípků (2.9.22) a/nebo se provede zkouška pevnosti čípků a vaginálních kuliček (2.9.24).

Použije se vhodná zkouška k ověření příslušného uvolňování účinné látky (látek) z přípravku s řízeným uvolňováním nebo s prodlouženým místním účinkem.

Při výrobě čípků obsahujících dispergovanou léčivou látku (léčivé látky) se měřením zajistí vhodná a kontrolovaná velikost částic.

### Zkoušení

**Rozpadavost.** Pokud se nejedná o přípravky s řízeným uvolňováním nebo prodlouženým místním účinkem, vyhovují zkoušce rozpadavosti rektálních a vaginálních přípravků (2.9.2). Čípky s lipofilním základem se kontrolují po 30 min a čípky se základem rozpustným ve vodě se kontrolují po 60 min, není-li předepsáno a schváleno jinak.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

## Capsulae rectales

### Rektální tobolky

*Synonymum.* Rektální kapsle

Jsou to tuhé jednodávkové přípravky obecně podobné měkkým tobolkám popsaným v článku *Capsules*, od nichž se liší možností použití lubrifikačního potahu. Jsou protáhlého tvaru, hladké a mají jednotný vnější vzhled.

### Výroba

Použije se vhodná zkouška k ověření příslušného uvolňování léčivé látky (léčivých látek) z přípravku s řízeným uvolňováním nebo prodlouženým místním účinkem.

### Zkoušení

**Rozpadavost.** Pokud se nejedná o přípravky s řízeným uvolňováním, nebo prodlouženým místním účinkem, vyhovují zkoušce rozpadavosti rektálních a vaginálních přípravků (2.9.2). Rektální tobolky se hodnotí po 30 min, není-li předepsáno a schváleno jinak.

## Solutiones, emulsiones et suspensiones rectales

### Rektální roztoky, emulze a suspenze

*Synonymum.* Klyzmata

Jsou to tekuté přípravky určené k rektálnímu podání s celkovým nebo místním účinkem nebo k diagnostickým účelům.

Jsou to jednodávkové přípravky obsahující jednu nebo více léčivých látek rozpuštěných nebo dispergovaných ve vodě, glycerolu, makrogolech nebo v jiných vhodných rozpouštědlech. V emulzích se mohou oddělovat fáze, které jsou protřepáním snadno znovu homogenizovatelné. Suspenze mohou obsahovat sediment, který se snadno rozřepí; takto vzniklá suspenze je natolik stabilní, aby bylo umožněno podání správné dávky.

Rektální roztoky, emulze a suspenze mohou obsahovat pomocné látky, např. k úpravě viskozity přípravku, úpravě a stabilizaci pH, zvýšení rozpustnosti léčivé látky (látek) nebo ke stabilizaci přípravku. Tyto pomocné látky nemají nepříznivě ovlivňovat léčebný účinek nebo v použitých koncentracích být příčinou přílišné místní dráždivosti.

Rektální roztoky, emulze a suspenze se dodávají v obalech o obsahu 2,5 ml až 2000 ml. Obal je upraven k podání přípravku do konečníku nebo je přiložen vhodný aplikátor.

## **Pulveres et tabulettae rectales pro solutionibus et suspensionibus**

### **Prášky a tablety pro rektální roztoky a suspenze**

Jsou to jednodávkové přípravky, které se rozpouštějí nebo dispergují ve vodě bezprostředně před podáním. Mohou obsahovat pomocné látky k usnadnění rozpouštění nebo dispergace nebo k zabránění shlukování částic.

Po rozpouštění nebo dispergaci vyhovují požadavkům na rektální roztoky nebo rektální suspenze, jak je to vhodné.

### **Zkoušení**

**Rozpadavost.** Tablety pro rektální roztoky nebo suspenze se rozpadají do 3 min při zkoušce rozpadavosti tablet a tobolek (2.9.1), ale používá se *voda R* o teplotě 15 °C až 25 °C.

### **Označování**

V označení na obalu se uvede:

- návod na přípravu rektálního roztoku nebo suspenze,
- podmínky a doba uchovávání roztoku nebo suspenze po přípravě.

## **Rectalia semisolida**

### **Polotuhé rektální přípravky**

Jsou to masti, krémy nebo gely.

Jsou často dodávány jako jednodávkové přípravky v obalech s vhodným aplikátorem.

Polotuhé rektální přípravky vyhovují požadavkům článku *Unguenta*.

## **Spumae rectales**

### **Rektální pěny**

Rektální pěny vyhovují požadavkům článku *Spumae medicatae*.

## **Tampona rectalia medicata**

### **Rektální tampony**

Jsou to pevné jednodávkové přípravky určené k zavedení do konečníku na určenou dobu.

Vyhovují požadavkům článku *Tampona medicata*.

210. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, články Spumae medicatae, Styli, Tabulettae a Tampona medicata znějí:

”

## Spumae medicatae

Léčivé pěny

*Synonyma.* Musci medicati, pěny s léčivy



2001

*Doplňující požadavky na léčivé pěny různých typů jsou uvedeny v dalších obecných člancích, např. Rectalia, Vaginalia a Liquida ad usum dermicum.*

Jsou to přípravky tvořené velkým objemem plynu dispergovaného v tekutině, obsahující zpravidla jednu nebo několik léčivých látek, povrchově aktivní látku umožňující tvorbu pěny a různé další pomocné látky. Pěny s léčivy jsou obvykle určeny k aplikaci na kůži nebo sliznice.

Léčivé pěny se obvykle tvoří při aplikaci tekutých přípravků z tlakového balení. Tlaková nádoba je vybavena ventilem a rozprašovačem na pěnu.

Léčivé pěny určené k použití na vážně poškozenou kůži a na velké otevřené rány jsou sterilní.

Léčivé pěny dodávané v tlakovém balení vyhovují požadavkům článku *Praeparata pharmaceutica in vasis cum pressu*.

### Výroba

Sterilní léčivé pěny se vyrábějí za použití materiálů a metod určených k zajištění sterility a k zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; odpovídající doporučení jsou ve stati *Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1)*.

### Zkoušení

**Relativní hustota pěny.** Tlaková nádoba se uchovává nejméně 24 h při teplotě asi 25 °C. Při manipulaci je třeba přípravek chránit před zahřátím. K výstupu rozprašovače na pěnu se připojí pevná trubička délky 70 mm až 100 mm a vnitřního průměru 1 mm. Nádobou se zatřepe, aby se zajistila homogenita tekuté fáze, a 5 ml až 10 ml pěny se odstříkne do odpadu. Odváží se miska s plochým dnem o objemu asi 60 ml a výšky asi 35 mm a konec trubičky připojené k výstupu tlačítka ventilu se přiloží ke dnu misky a za krouživého pohybu se po stlačení ventilu miska rovnoměrně naplní penou. Jakmile pění ustane, zarovná se povrch pěny vhodnou stěrkou a přebytek pěny se odstraní. Vážením se potom určí hmotnost pěny a hmotnost stejného objemu *vody R* naplněné do misky.

Relativní hustota pěny je dána vztahem:

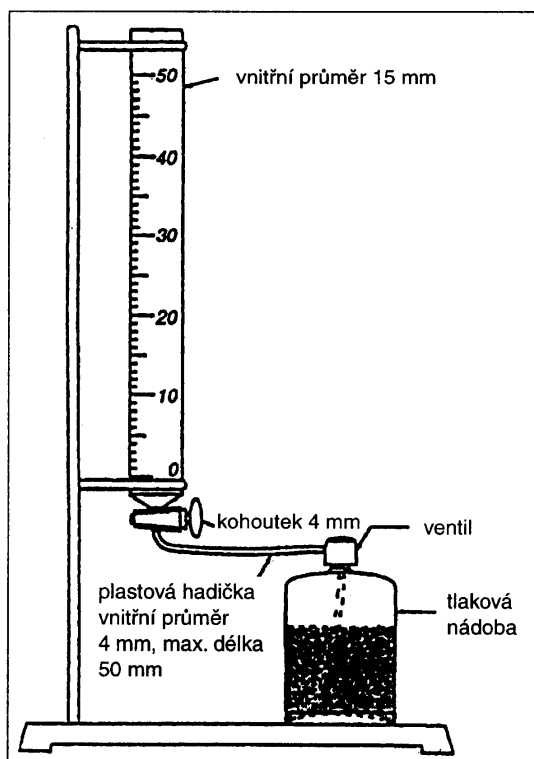
$$- m/e,$$

v němž značí:

*m* - hmotnost zkoušeného přípravku pěny v gramech,

*e* - hmotnost stejného objemu *vody R* v gramech.

Zkouška se provede třikrát, přičemž žádný z výsledků se neliší od průměrné hodnoty o více než 20 %.



**Obr. 1** Zařízení pro stanovení doby napěnění

**Doba napěnění.** Zařízení, viz obrázek 1, tvoří byreta na 50 ml o vnitřním průměru 15 mm s dělením po 0,1 ml uzavřená jednocestným kohoutem s otvorem 4 mm. Vyznačení objemu 30 ml je nejméně 210 mm nad osou kohoutu. Dolní část byrety je spojena s výstupem z rozprašovače na pěnu pomocí hadičky z plastu, která je dlouhá nejvýše 50 mm a má vnitřní průměr 4 mm. Tlaková nádoba byla před měřením uchovávána nejméně 24 h při teplotě asi 25 °C. S nádobou se zatřepe, aby se tekutá fáze zhomogenizovala, a 5 ml až 10 ml pěny se odstříkne do odpadu. Po připojení výstupu z rozprašovače na pěnu k výpusti byrety se jedním stlačením ventilu vystříkne asi 30 ml pěny. Kohout se uzavře a současně se začne odečítat čas. Sledují se změny objemu pěny v byretě. Každých 10 s se zaznamená zvětšující se objem až do největšího objemu.

Zkouška se provede třikrát. Žádný z časů potřebných k dosažení největšího objemu není delší než 5 min.

**Sterilita (2.6.1).** Je-li přípravek označen jako sterilní, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

## Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, zda je přípravek sterilní.

## Styli

### Tyčinky



2001

*Doplňující požadavky na tyčinky různých typů lze nalézt v dalších obecných člancích, např. Nasalia.*

Jsou to tuhé přípravky určené k místnímu podání. Jsou to válcovité nebo kónické přípravky tvořené jednou nebo více léčivými látkami samotnými nebo jsou tato léčiva rozpuštěna nebo dispergována ve vhodném základu, který se může rozpouštět nebo tát při teplotě těla.

Uretrální tyčinky a tyčinky určené k vložení do ran jsou sterilní.

## Výroba

Při výrobě, balení, skladování a distribuci tyčinek se využívá vhodných způsobů k zajištění jejich mikrobiální čistoty a zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; odpovídající doporučení jsou ve stati Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

Uretrální a jiné sterilní tyčinky jsou vyráběny za použití materiálů a metod určených k zajištění sterility; odpovídající doporučení jsou ve stati Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1).

Při přípravě tyčinek se využívají způsoby zajišťující, aby přípravek vyhověl zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost nebo, kde je to vhodné, zkoušce na obsahovou stejnoměrnost.

## Zkoušení

**Sterilita (2.6.1).** Uretrální tyčinky a tyčinky určené k vložení do ran vyhovují zkoušce na sterilitu.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- množství léčivé látky (léčivých látek) v jedné tyčince,
- u uretrálních tyčinek a tyčinek určených k vložení do ran, že přípravek je sterilní.

---

## Tablettaa

Tablety

*Synonymum.* Compressi



2001

*Požadavky tohoto článku se nevztahují nutně na přípravky, které jsou označeny jako tablety, ale jsou podávány jinak než perorálně. Požadavky na tyto přípravky lze nalézt v případě potřeby v jiných obecných člancích, např. Rectalia a Vaginalia. Požadavky tohoto článku se nevztahují na články pastilky, lyofilizáty, pasty a gumy k orálnímu užití. Je-li předepsáno a schváleno jinak, požadavky tohoto článku se nevztahují na tablety pro veterinární použití.*

Jsou to pevné přípravky s obsahem jedné dávky léčivé látky nebo látek v jedné tabletě. Jsou určeny k perorálnímu podání, obvykle se získávají slisováním stejných objemů částic. Některé tablety se polykají celé, některé se žvýkají, některé se před podáním rozpouštějí nebo dispergují ve vodě a některé se ponechají v ústech, kde se z nich uvolňuje léčivá látka.

Částice jsou tvořeny jednou nebo více léčivými látkami s pomocnými látkami nebo bez nich. Pomocnými látkami jsou plniva, pojiva, vlhčiva, rozvolňovadla, látky kluzné, látky modifikující uvolňování léčiv, barviva schválená oprávněnou autoritou a chuťové a aromatické přísady.

Tablety jsou obvykle válcovitého tvaru, ploché nebo čokkovité, hrany mohou být zkosené. Mohou mít rýhy k usnadnění jejich rozdělení a mohou být označeny nápisem nebo značkami. Tablety mohou být obalené.

Obaly pro tablety, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Rozlišuje se několik druhů tablet:

- neobalené tablety,
- obalené tablety,
- šumivé tablety,
- tablety pro přípravu roztoku,
- tablety pro přípravu disperze,
- enterosolventní tablety,
- tablety s řízeným uvolňováním,
- tablety působící v ústech.

## Výroba

Tablety se vyrábějí lisováním stejných objemů částic nebo shluků částic vyrobených granulačními metodami. Při výrobě tablet a zejména jader pro obalené tablety se zajistí vhodná mechanická pevnost, aby se při manipulaci nedrobily a nelámaly. To lze ověřit měřením oděru neobalených tablet (2.9.7) a jejich pevnosti (2.9.8).

Žvýkácké tablety se vyrábějí tak, aby bylo dosaženo jejich vhodných vlastností pro tento způsob podání. Tablety s pŕilicí rýhou se mohou rozdělit na dvě stejné poloviny.

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci tablet se používá vhodných způsobů k zajištění jejich mikrobiální čistoty; příslušná doporučení jsou ve stati Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

## Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, tablety s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce A na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Neobalené tablety, pokud není předepsáno a schváleno jinak, a filmem potažené tablety vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

**Disoluce.** Vhodnou zkouškou se prokáže příslušné uvolňování léčivé látky (látek), např. jedna ze zkoušek popsanych ve stati Zkouška disoluce pevných jednodávkových lékových forem (2.9.3).

V případě, že je předepsána zkouška disoluce, nevyžaduje se zkouška rozpadavosti.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněny před rozdrčením a mechanickým nárazem.

## Tablettae non obductae

### Neobalené tablety

Jsou to jednovrstevné tablety vzniklé prostým lisováním částic a vícevrstevné tablety skládající se ze soustředných nebo souběžných vrstev získaných postupným lisováním částic různého složení. Použité pomocné látky nejsou výslovně určeny k řízení uvolňování léčivé látky v trávicích tekutinách.

Neobalené tablety mají obecné znaky tablet. Na lomu pozorovaném pod lupou je patrna stejnoměrná struktura (jednovrstevné tablety) nebo vrstevnatá struktura (vícevrstevné tablety), ale nejsou patrné žádné známky obalování.

### Zkoušení

**Rozpadavost.** Neobalené tablety vyhovují zkoušce na rozpadavost tablet a tobolek (2.9.1) za použití vody R jako tekutiny. Do každé trubice se přidá disk. Přístroj se uvede do chodu na 15 min, pokud není předepsáno a schváleno jinak, a potom se kontroluje stav tablet. Jestliže se tablety přilepily na disky, zkoušku nelze hodnotit, opakuje se zkouška s dalšími šesti tabletami bez disků. Tablety vyhovují zkoušce, jestliže se rozpadlo všech šest tablet.

U žvýkáckých tablet se tato zkouška nevyžaduje.

## Tablettae obductae

### Obalené tablety

*Synonyma.* Obalované tablety, dražé, potahované tablety

Obalené tablety jsou tablety tvořené jádrem pokrytými jednou vrstvou (potahované tablety, filmem potažené tablety) nebo více vrstvami (dražované tablety nebo tablety s nalisovaným obalem) ze směsi různých látek, jako jsou přírodní

nebo syntetické pryskyřice, gumy, želatina, neaktivní a nerozpustná plniva, cukry, změkčovadla (plastifikátory), polyalkoholy, vosky, povolená a oprávněnou autoritou schválená barviva, někdy chuťové a aromatické přísady a léčivé látky. Látky určené k obalování jsou obvykle nanášeny ve formě roztoků nebo disperzí za podmínek umožňujících odpaření rozpouštědla. Je-li obalovou vrstvou velmi tenká vrstva polymeru, jedná se o filmem potažené tablety.

Obalené tablety mají hladký povrch, který je často zbarven a může být leštěný. Na lomu pozorovaném pod lupou je patrné jádro obklopené jednou nebo více souvislými vrstvami rozdílné struktury.

## Zkoušení

**Rozpadavost.** Obalené tablety s výjimkou potahovaných tablet, vyhovují následující zkoušce rozpadavosti tablet a tobolek (2.9.1) za použití *vody R* jako tekutiny. Do každé trubice se přidá disk. Přístroj se uvede do chodu na 60 min, pokud není předepsáno a schváleno jinak, a potom se pozoruje stav tablet. Jestliže tablety nevyhovují zkoušce, opakuje se zkouška s dalšími šesti tabletami a místo *vody R* se použije *kyselina chlorovodíková 0,1 mol/l RS*. Tablety vyhovují zkoušce, jestliže se v kyselém prostředí rozpadlo všech šest tablet.

Potahované tablety vyhovují výše uvedené zkoušce s tím, že přístroj se uvede do chodu na 30 min, není-li předepsáno a schváleno jinak.

Jestliže se obalené nebo potahované tablety přilepily na disky, zkoušku nelze hodnotit, opakuje se zkouška s dalšími šesti tabletami bez disků. Tablety vyhovují zkoušce, jestliže se rozpadlo všech šest tablet.

U obalovaných žvýkacích tablet se tato zkouška nevyžaduje.

## Tablettae effervescentes

### Šumivé tablety

Jsou to neobalené tablety obsahující kyselé látky a uhličitany nebo hydrogenuhličitany, které za přítomnosti vody prudce reagují za vzniku oxidu uhličitého. Jsou určeny k rozpuštění nebo dispergaci ve vodě před podáním.

## Zkoušení

**Rozpadavost.** Jedna tableta se umístí do nádoby s 200 ml *vody R* při 15 °C až 25 °C a sleduje se vznik bublinek. Když se zastaví uvolňování plynu z tablety nebo jejích částí, tableta je rozpadlá, a to buď rozpuštěná, nebo dispergovaná ve vodě tak, že nezbyly žádné shluky částic. Zkouška se opakuje s dalšími pěti tabletami. Tablety vyhovují zkoušce, když se každá ze šesti tablet rozpadla za popsanych podmínek do 5 min, není-li předepsáno a schváleno jinak.

## Tablettae pro solutione

### Tablety pro přípravu roztoku

*Synonymum.* Rozpustné tablety

Jsou to neobalené nebo filmem potažené tablety. Jsou určeny k rozpuštění ve vodě před podáním. Vzniklý roztok může slabě opalizovat v závislosti na vlastnostech pomocných látek použitých při výrobě tablet.

## Zkoušení

**Rozpadavost.** Tablety pro přípravu roztoků se rozpadají do 3 min při zkoušce rozpadavosti tablet a tobolek (2.9.1) za použití *vody R* při teplotě 15 °C až 25 °C.



## Tablettae pro dispersione

Tablety pro přípravu disperze

Jsou to neobalené nebo filmem potažené tablety, určené před podáním k dispergaci ve vodě za vzniku homogenní disperze.

### Zkoušení

**Rozpadavost.** Tablety pro disperze se rozpadají do 3 min při zkoušce rozpadavosti tablet a tobolek (2.9.1) za použití vody R při teplotě 15 °C až 25 °C.

**Jemnost disperze.** Do 100 ml vody R se dají dvě tablety a míchá se, dokud se zcela nerozptýlí. Vznikne rovnoměrná disperze, která projde sítím (710 μm).

## Tablettae cum liberatione modificata

Tablety s řízeným uvolňováním

*Synonyma.* Tablety s modifikovanou liberací, retardované tablety, retardety

Jsou to obalené nebo neobalené tablety připravené pomocí vybraných pomocných látek nebo vybraných postupů použitých samostatně nebo v kombinaci tak, aby se dosáhlo vhodné rychlosti, místa nebo času uvolňování účinné látky (látek).

Tablety s řízeným uvolňováním zahrnují tablety s prodlouženým uvolňováním, tablety se zpožděným uvolňováním, tablety s pulzujícím uvolňováním a tablety se zrychleným uvolňováním.

## Tablettae enterosolventes

Enterosolventní tablety

*Synonymum.* Acidorezistentní tablety

Je to druh tablet s řízeným uvolňováním odolných vůči žaludeční tekutině a uvolňujících léčivou látku (léčivé látky) ve střevní tekutině. Obvykle se připravují ze zrněných prášků nebo částic již potažených acidorezistentním obalem nebo v jiných případech pokrytím tablet acidorezistentním obalem.

Tablety s acidorezistentním obalem mají charakter obalených tablet.

### Výroba

U tablet připravených ze zrněných prášků nebo částic již pokrytých acidorezistentním obalem se použije vhodná zkouška k ověření příslušného uvolňování léčivé látky (léčivých látek).

### Zkoušení

**Rozpadavost.** U tablet s acidorezistentním obalem se provede zkouška rozpadavosti (2.9.1) s následující úpravou. Jako tekutina se použije kyselina chlorovodíková 0,1 mol/l RS. Přístroj bez disků se uvede do chodu na dobu 2 h nebo jinou povolenou a oprávněnou autoritou schválenou dobu a potom se sleduje stav tablet. Doba rezistence vůči kyselému prostředí se mění podle složení zkoušených tablet. Obvykle jsou to 2 h až 3 h, ale i při schválení odchylky není doba menší než 1 h. Žádná tableta nevykazuje známky rozpadu (kromě úlomků obalu) nebo praskliny, které by umožnily únik obsahu. Pak se nahradí kyselina tlumivým roztokem fosforečnanovým o pH 6,8 a do každé trubice se přidá disk. Přístroj se uvede do chodu na 60 min a potom se sleduje stav tablet. Jestliže se přilepily na disky, zkoušku nelze

hodnotit, opakuje se zkouška s dalšími šesti tabletami bez disků. Tablety vyhovují zkoušce, jestliže se rozpadlo všech šest tablet.

**Disoluce.** Ke stanovení množství uvolňované léčivé látky (léčivých látek) z tablet, které byly vyrobeny z granulí nebo částic již potažených enterosolventním potahem se použije vhodná zkouška, např. Zkouška disoluce pevných lékových forem (2.9.3).

### Výroba

Požadované uvolňování léčivé látky (léčivých látek) nebo přísad se ověří vhodnou zkouškou.

## Tablettae orales

### Tablety působící v dutině ústní

Jsou to obvykle nebalené tablety. Jsou určeny k pomalému uvolňování a místnímu účinku léčivé látky (látek) nebo k uvolňování a vsřebávání léčivé látky (léčivých látek) v určité části úst.

Tablety působící v dutině ústní se zpravidla nazývají:

- sublingvální tablety,
- bukalní tablety,
- muko-adhezivní tablety,
- žvýkácké tablety.

---

## Tampona medicata

### Tampony s léčivými

*Synonymum.* Léčivé tampony



*Doplňující požadavky na tampony s léčivými různými typy jsou uvedeny v dalších obecných člácích, např. Rectalia, Vaginalia a Auricularia.*

Jsou to pevné jednodávkové přípravky určené ke vložení do tělních dutin na omezenou dobu. Jsou tvořeny vhodným materiálem, jako je celulóza, kolagen nebo silikon, napuštěným jednou nebo více léčivými látkami.

### Výroba

Při výrobě, balení, skladování a distribuci tamponů s léčivými se využívá vhodných způsobů k zajištění jejich mikrobiální čistoty; odpovídající doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

### Označování

V označení na obalu se uvede množství léčivé látky (léčivých látek) v jednom tamponu.

211. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, článek Unguenta zní:

”

## Unguenta

### Polotuhé přípravky k aplikaci na kůži



2001

*Požadavky tohoto článku platí pro všechny polotuhé přípravky k aplikaci na kůži. U polotuhých přípravků určených k aplikaci na specifické povrchy kůže nebo sliznice jsou doplňující požadavky uvedeny v příslušných článcích, např. Auricularia, Ocularia, Nasalia, Rectalia a Vaginalia.*

Jsou to polotuhé přípravky určené k aplikaci na kůži nebo sliznice s místním účinkem, k penetraci léčivých látek kůži nebo se změkčovacím, popřípadě ochranným účinkem. Mají homogenní vzhled.

Polotuhé přípravky k aplikaci na kůži jsou tvořeny jednoduchým nebo složeným základem, v němž je zpravidla rozpuštěna, emulgována nebo suspendována jedna nebo více léčivých látek. Složením základu lze ovlivňovat účinnost přípravku a uvolňování léčivé látky (látek).

Základy mohou obsahovat přírodní nebo syntetické látky; mohou to být jednofázové nebo vícefázové systémy. Podle povahy základu mají přípravky hydrofilní nebo hydrofobní (lipofilní) vlastnosti; mohou obsahovat vhodné pomocné látky, jako jsou protimikrobní přísady, antioxidanty, stabilizátory, emulgátory a látky zvyšující viskozitu.

Polotuhé přípravky určené k aplikaci na velké otevřené rány a na vážně poškozenou kůži jsou sterilní.

Obaly pro polotuhé přípravky k aplikaci na kůži, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Rozlišuje se několik druhů polotuhých přípravků k aplikaci na kůži:

- masti,
- krémy,
- gely,
- pasty,
- kataplazmata.

### Výroba

Při vývoji polotuhého přípravku určeného k aplikaci na kůži, obsahujícího protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady k uspokojení oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení spolu s kritérii pro posouzení konzervačních vlastností v daném složení přípravku je popsána ve statí Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3).

Při výrobě, balení, skladování a distribuci polotuhých přípravků k aplikaci na kůži se využívají vhodné způsoby zajištění jejich mikrobiální čistoty; odpovídající doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.5).

Sterilní polotuhé přípravky k aplikaci na kůži jsou vyráběny za použití materiálů a metod určených k zajištění sterility a zabránění kontaminace a množení mikroorganismů; odpovídající doporučení jsou ve statí Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1).

Při výrobě polotuhých přípravků k aplikaci na kůži obsahujících dispergované částice se měřením zajišťuje vhodná velikost těchto částic vzhledem k určenému použití.

### Zkoušení

**Využitelná hmotnost nebo objem (2.9.28).** Polotuhé přípravky k aplikaci na kůži dodané v jednodávkovém obalu vyhovují zkoušce.

**Sterilita (2.6.1).** Je-li přípravek označen jako sterilní, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech nebo, jestliže přípravek obsahuje vodu a jiné vypařující se látky, uchovává se ve vzduchotěsných obalech. Obaly jsou přednostně stlačitelné kovové tuby, z nichž lze přípravek vytlačovat. Je-li přípravek sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- název všech protimikrobních přísad,
- kde je to vhodné, zda je přípravek sterilní.

## Unguenta cum monophasali vehiculo

### Masti

Jsou tvořeny jednofázovým základem, v němž mohou být dispergovány tuhé nebo kapalné látky.

### Hydrofobní masti

Hydrofobní (lipofilní) masti mohou absorbovat pouze malé množství vody. Typické použité látky jsou tuhá, měkká nebo tekutá parafin, rostlinné oleje, živočišné tuky, syntetické glyceridy, vosky a tekuté polyalkylsiloxany.

### Masti emulgující vodu

Vodu emulgující masti mohou absorbovat větší množství vody. Jejich základem jsou takové hydrofobní masti, v nichž jsou přítomny emulgátory typu voda v oleji (*v/o*), jako jsou vosk z ovčí vlny, alkoholy vosku z ovčí vlny, estery sorbitanu, monoglyceridy a mastné alkoholy.

### Hydrofilní masti

Hydrofilní masti jsou přípravky se základem mísícím se s vodou. Základ je obvykle tvořen směsí tekutých a tuhých polyethylenglykolů (makrogolů). Mohou obsahovat přiměřené množství vody.

## Cremores

### Krémy

Krémy jsou vícefázové přípravky obsahující lipofilní a vodnou fázi.

### Hydrofobní krémy

Hydrofobní krémy mají jako kontinuální (vnější) fázi lipofilní fázi. Obsahují emulgátory typu voda v oleji (*v/o*), jako tuk z ovčí vlny, estery sorbitanu a monoglyceridy.

### Hydrofilní krémy

Hydrofilní krémy mají jako kontinuální (vnější) fázi vodnou fázi. Obsahují emulgátory typu olej ve vodě (*o/v*), jako sodná nebo triethanolamoniová mýdla, sírany mastných alkoholů a polysorbátů, je-li třeba, kombinované s emulgátory typu voda v oleji (*v/o*).

## Gelata

### Gely

Gely jsou tvořeny tekutinami, které gelovají za přítomnosti vhodných gelotvorných látek.

### Hydrofobní gely

Hydrofobní gely (oleogely) jsou přípravky, jejichž základ je obvykle tvořen tekutým parafinem s polyethylenem nebo mastnými oleji tvořícími gel s koloidním oxidem křemičitým nebo s oxidem hlinitým nebo zinečnatým mýdlem.

### Hydrofilní gely

Hydrofilní gely (hydrogely) jsou přípravky, jejichž základ obvykle tvoří voda, glycerol nebo propylenglykol tvořící gel s vhodnou gelotvornou látkou, jako je tragant, škrob, deriváty celulosy, karboxyvinylpolymery a křemičitany hořečnato-hlinité.

## Pastae

### Pasty

Pasty jsou polotuhé přípravky obsahující vysoký podíl tuhé látky jemně dispergované v základu.

## Cataplasmae

### Kataplazmata

Kataplazmata jsou tvořena hydrofilním základem zadržujícím teplo, ve kterém jsou dispergovány pevné nebo tekuté účinné látky. Obvykle se roztírají v silné vrstvě na vhodný obvaz a před aplikací se zahřívají.

“

212. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, články Vaccina ad usum veterinarium a Vaginalia znějí:

”

---

## Vaccina ad usum veterinarium

Vakcíny pro veterinární použití

*Synonymum.* Veterinární očkovací látky



2001

---

*Ustanovení v tomto článku se používají v lékopisných člancích na vakcíny pro veterinární použití. Nevztahují se nezbytně na vakcíny pro veterinární užití, které nejsou předmětem těchto článků. V případě složených vakcín se ke každé složce, která je předmětem lékopisného článku, vztahují opatření tohoto článku přizpůsobená podle potřeby, jak je po-*

psáno níže, viz *Zkoušky na čistotu (Bezpečnost)*, *Hodnocení bezpečnosti veterinárních vakcín (5.2.6)* a *Hodnocení účinnosti veterinárních vakcín (5.2.7)*.

Jsou to přípravky obsahující antigenní látky a podávají se k vyvolání specifické a aktivní imunity proti onemocněním způsobeným bakteriemi, toxiny, viry nebo parazity. Živé nebo inaktivované vakcíny vyvolávají aktivní imunitu, která může být pasivně přenesena mateřskými protilátkami proti imunogenům, jež vakcíny obsahují, a někdy též proti antigenně příbuzným organismům. Vakcíny mohou obsahovat živé nebo inaktivované mikroorganismy, parazity nebo antigenní frakce či látky vytvářené těmito organismy. Jsou neškodné, přitom si uchovávají všechny nebo alespoň část svých antigenních vlastností. Vakcíny mohou také obsahovat kombinace těchto složek. Ke zvýšení imunizačních vlastností vakcíny se mohou použít vhodná adjuvantia.

Terminologie užívaná v článcích na vakcíny pro veterinární použití je uvedena v obecné stati (5.2.1).

### **Bakteriální vakcíny a bakteriální toxoidy**

Bakteriální vakcíny a bakteriální toxoidy se připravují z kultur vypěstovaných na vhodných pevných nebo tekutých živných půdách či jiným vhodným způsobem. Požadavky uvedené v této části se nevztahují na bakteriální vakcíny připravené na buněčných kulturách nebo živých zvířatech. Použitý kmen bakterií mohl být změněn genetickým inženýrstvím. U každé použité bakteriální kultury je pečlivě kontrolována totožnost, antigenní účinnost a čistota.

Bakteriální vakcíny obsahují inaktivované nebo živé bakterie nebo jejich antigenní složky. Tyto přípravky jsou buď tekuté o různém stupni zákalu, nebo mohou být lyofilizovány.

Bakteriální toxoidy se připravují z toxinů snížením jejich toxicity na velmi nízkou úroveň nebo úplným odstraněním toxicity fyzikálními či chemickými prostředky při zachování odpovídající imunizační účinnosti. Toxiny se získávají z vybraných kmenů specifikovaných mikroorganismů, které vyrostly na vhodných živných půdách, nebo se získávají jinými vhodnými prostředky, například chemickou syntézou.

Toxoidy mohou být:

- tekuté,
- vysrážené síranem draselným-hlinitým nebo jiným vhodným činidlem,
- purifikované a/nebo adsorbované na fosforečnan hlinitý, hydroxid hlinitý, fosforečnan vápenatý nebo jiné sorbenty uvedené v příslušném článku.

Bakteriální toxoidy jsou číré nebo lehce opalizující tekutiny. Adsorbované toxoidy jsou suspenze nebo emulze. Některé toxoidy mohou být lyofilizované.

Pokud není uvedeno jinak, vztahují se ustanovení a požadavky dále uvedené stejně na bakteriální vakcíny, na bakteriální toxoidy a na přípravky obsahující kombinaci bakteriálních buněk a toxoidů.

### **Virové vakcíny**

Virové vakcíny se připravují kultivací ve vhodných buněčných kulturách (5.2.4), tkáních, mikroorganismech, ptáčích embryích nebo (pokud není možné jinak) živých zvířatech nebo jinými vhodnými prostředky. Použitý kmen viru mohl být změněn genetickým inženýrstvím. Jsou to tekuté nebo lyofilizované přípravky jednoho nebo více virů, virových subjednotek nebo peptidů.

Živé virové vakcíny se připravují z virů, které mají oslabenou virulenci nebo mají přirozeně nízkou virulenci pro cílový druh.

Inaktivované virové vakcíny se zpracovávají validovaným postupem inaktivace viru a mohou být purifikovány a koncentrovány.

### **Vektorové vakcíny**

Vektorové vakcíny jsou tekuté nebo lyofilizované přípravky, které obsahují jeden nebo více typů živých mikroorganismů (bakterií nebo virů), které nejsou patogenní nebo mají nízkou patogenitu pro cílový druh a do kterých byl vložen jeden nebo více genů kódujících antigeny, které stimulují imunitní odpověď chránící proti jiným mikroorganismům.

## Výroba

Metody přípravy, které se liší podle typu vakcíny, jsou voleny tak, aby se zachovala totožnost a imunogenita antigenu a aby se zabránilo kontaminaci cizími agens.

Látky živočišného původu užití při výrobě vakcín pro veterinární použití vyhovují požadavkům obecné stati (5.2.5). Jiné látky použité k přípravě vakcín pro veterinární použití vyhovují požadavkům lékopisu (pokud existuje odpovídající článek) a připravují se způsobem, který zabraňuje kontaminaci vakcíny živými organismy nebo toxiny.

### *Substráty pro výrobu*

Buněčné kultury použité k výrobě vakcín pro veterinární použití vyhovují požadavkům obecné stati (5.2.4).

Kde článek odkazuje na chovy kuřat prostých specifikovaných patogenů (SPF), vyhovují tyto chovy požadavkům, které jsou popsány v obecné stati Chovy kuřat prostých specifikovaných patogenů, která jsou určena pro výrobu a kontroly jakosti vakcín (5.2.2).

Pro výrobu inaktivovaných vakcín, kde organismy vakcíny jsou kultivovány v embryích, pocházejí tato embrya buď z SPF chovu (5.2.2), nebo ze zdravého ne-SPF chovu bez přítomnosti určitých agens a jejich protilátek, jak je specifikováno v příslušném článku. Může být nutné prokázat účinnost postupu inaktivace proti specifikovaným možným kontaminantům. Ve výrobě matečného inokula a ve všech pasážích mikroorganismů k přípravě pracovního inokula se používají embrya z SPF chovů (5.2.2).

Pokud je ve výrobě vakcín pro veterinární použití nevyhnutelné použít zvířata nebo zvířecí tkáně, musí být tato zvířata prostá specifikovaných patogenů z hlediska použitého druhu těchto zvířat a cílového zvířete pro vakcínu.

### *Tkáňová média*

Zaznamená se alespoň kvalitativní složení média použitého pro přípravu výchozí kultury a pro výrobu. Jakost všech uvedených složek se specifikuje. Pokud jsou média nebo jejich složky označeny jako výrobní vlastnictví, je to uvedeno a je zaznamenán vhodný popis. Složky živočišného původu jsou specifikovány zdrojem živočišného druhu a zemí původu a vyhovují požadavkům obecné stati (5.2.5). Použitý postup přípravy médií, včetně sterilizačních postupů, se dokumentuje.

Přidání antibiotik při výrobním postupu je obvykle omezeno na tekutiny buněčných kultur a jiná média, na inokulum kuřecích embryí, materiál získaný z kůže nebo jiných tkání.

### *Bakteriální zásobní inokulum*

**Všeobecné požadavky.** Je stanoven rod a druh, a pokud je to možné, též kmen bakterií, které jsou určeny k výrobě vakcíny. Pokud je to možné, používá se systém jednotné inokulace. Každé matečné inokulum se zkouší, jak je popsáno dále. Pro každé matečné inokulum se vedou tyto záznamy: původ, datum izolace, průběh pasážování (včetně čištění a charakterizačních postupů) a podmínky uchovávání. Každé matečné inokulum má přidělen specifický kód k identifikačním účelům.

**Pomnožování.** Před zahájením výroby je stanoven minimální a maximální počet subkultur každého matečného inokula. Dále se dokumentují metody pro přípravu očkovacích kultur a přípravu suspenze pro očkování, technika inokulace násady, titer a koncentrace použitého inokula a použité živné půdy. Mělo by být dokázáno, že se těmito subkulturami nemění charakteristické znaky kultury (např. disociace nebo antigenita). Jsou zdokumentovány podmínky, za kterých je každé zásobní inokulum uchováváno.

**Totožnost a čistota.** Každé matečné inokulum prokazatelně obsahuje pouze uvedený bakteriální druh a kmen. Zaznamená se krátký popis metod k prokázání totožnosti každého kmene biochemickými, sérologickými a morfologickými charakteristikami a co možná největší rozlišení od příbuzných kmenů a také metody ke zjištění čistoty kmene. Jestliže se prokáže, že matečné inokulum obsahuje nějaké jiné živé organismy, než je uvedený druh a kmen, je toto inokulum nevhodné pro výrobu vakcíny.

### *Virové zásobní inokulum*

**Všeobecné požadavky.** U virů používaných ve výrobě je zaveden systém jednotné inokulace. Každé matečné inokulum se zkouší, jak je popsáno dále. O každém matečném inokulu se vedou tyto záznamy: původ, datum izolace, průběh pa-

sázování, včetně čištění a charakterizačních postupů, a podmínky uchovávání. Každé matečné inokulum má přidělen specifický kód k identifikačním účelům. K výrobě vakcíny se obvykle nepoužívá virus po více než pěti pasážích z matečného inokula. Ve zkouškách matečného inokula dále popsaných, pokud není uvedeno jinak, se obvykle na počátku zkoušky použijí organismy po nejvýše pěti pasážích z matečného inokula.

Tam, kde je matečné inokulum obsaženo v permanentně infikovaných matečných buňkách, provádí se další zkoušky na vhodném objemu viru z rozrušených matečných buněk. Kde se provedly odpovídající zkoušky na rozrušených buňkách k validaci vhodnosti matečných tkáňových buněk, nemusí se tyto zkoušky opakovat.

**Pomnožování.** Matečné inokulum a všechny následující pasáže se pomnožují v buňkách, embryích nebo zvířatech, u nichž bylo prokázáno, že jsou vhodné pro výrobu vakcín (viz výše). Kde je to vhodné, použijí se látky živočišného původu vyhovující požadavkům obecné stati (5.2.5).

**Totožnost.** Použijí se vhodné metody k prokázání totožnosti vakcinačního kmene a jeho co možná největšího rozlišení od příbuzných kmenů.

**Bakterie a houby.** Matečné inokulum vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1).

**Mykoplazmata** (2.6.7). Matečné inokulum vyhovuje zkoušce na mykoplazmata.

**Nepřítomnost cizích virů.** Přípravy monoklonálních nebo polyklonálních protilátek, obsahujících vysoké hladiny neutralizačních protilátek proti viru zásobního inokula, se provádějí po šaržích za použití antigenu, který není získán z žádné úrovně pasáže izolace viru, z níž bylo připraveno matečné inokulum. Každá šarže séra se 30 min zahřívá na 56 °C, aby se inaktivoval komplement. U každé šarže se prokáže, že neobsahuje protilátky na možné kontaminace virové kultury a že nemá žádné nespecifické inhibující účinky na schopnost viru infikovat a dále se množit v buňkách (nebo embryích, pokud je to vhodné). Pokud se takové sérum nemůže získat, použijí se jiné specifické metody k odstranění nebo neutralizaci virového inokula.

Použitím minimálního množství monoklonální nebo polyklonální protilátky se vzorek matečného inokula ošetří tak, že virus vakcíny je neutralizován tak dalece, jak je možné, nebo je odstraněn. Konečná směs virus-sérum by měla, pokud je to možné, obsahovat titer viru odpovídající nejméně deseti dávkám vakcíny v 0,1 ml u aviárních vakcín a v 1 ml u ostatních vakcín. Tato směs se zkouší na nepřítomnost cizích virů, jak je popsáno dále.

Pro aviární vakcíny se provede zkouška na cizí viry s použitím embryí (2.6.3), zkouška na viry leukózy (2.6.4), důkaz cizích virů zkouškou na buněčných kulturách (2.6.5) a důkaz cizích antigenů zkouškou na kuřatech (2.6.6).

Pro ostatní vakcíny se směs naočkuje do kultur požadovaného typu buněk na plochu nejméně 70 cm<sup>2</sup>. Kultury mohou být očkovány v jakémkoli stupni růstu až do 70% nárůstu. Nejméně jedna nádoba s buňkami každého typu se uchová jako kontrolní. Kultury se denně prohlížejí po dobu jednoho týdne. Na konci tohoto období se kultury třikrát zmrazí a opět rozmrazí, odstředí, aby se odstranily odumřelé buňky, a přeočkují se do stejného typu buněk, jak je uvedeno výše. Tento postup se dvakrát opakuje. K provedení dalších zkoušek se v konečné pasáži získá dostatečné množství buněk ve vhodných nádobách.

Cytopatická a hemadsorpční agens se zkoušejí metodami popsanými v obecné stati o zkoušení buněčných kultur (5.2.4). Metody, jako je imunofluorescence, se použijí k důkazu specifické kontaminace pro zkoušky v buněčných kulturách. Matečné inokulum se naočkuje do:

- primárních buněk druhu, z něhož virus pochází,
- buněk citlivých na viry, patogenní pro druh, pro který je určena vakcína,
- buněk citlivých na pestiviry.

Jestliže se prokáže, že matečné inokulum obsahuje nějaké jiné živé organismy, než je uvedený druh a kmen, nebo cizorodé virové antigeny, je toto inokulum nevhodné pro výrobu vakcíny.

### **Inaktivace**

Inaktivované vakcíny se podrobují validovanému inaktivačnímu postupu. Dále popsané zkoušení inaktivační kinetiky se provádí jednou pro daný výrobní postup. Zbytek tohoto oddílu se vztahuje ke každé výrobě. Při provádění zkoušek na inaktivaci je nutno si uvědomit, že ve výrobních podmínkách mohou být organismy fyzikálně chráněny před inaktivační látkou.

**Inaktivační kinetika.** Mělo by se prokázat, že ve výrobních podmínkách inaktivační agens a inaktivační postup inaktivují mikroorganismus vakcíny. O inaktivační kinetice by se měly získat náležité údaje. Obvykle by čas potřebný k inaktivaci neměl být delší než 67 % trvání celého inaktivačního postupu.



**Aziridin.** Jestliže se jako inaktivační agens použije nějaká sloučenina aziridinu, mělo by se prokázat, že na konci inaktivačního postupu nezůstane žádné inaktivační agens. Toho se může dosáhnout neutralizací inaktivačního agens thiosíranem a průkazem zbytkového thiosíranu v inaktivované sklizni na konci inaktivačního postupu.

**Formaldehyd.** Jestliže se jako inaktivační agens použije formaldehyd, pak se provede zkouška na volný formaldehyd, jak je předepsáno ve zkouškách na čistotu.

**Ostatní inaktivační agens.** Když se použijí jiné metody inaktivace, provedou se patřičné zkoušky, aby se prokázalo, že inaktivační agens bylo odstraněno nebo sníženo na přijatelnou úroveň reziduí.

**Zkoušení inaktivace.** Zkouška na plnou inaktivaci se provádí ihned po ukončení inaktivačního postupu a je-li to vhodné, po neutralizaci nebo odstranění inaktivačního agens. Obsahuje-li vakcína adjuvans, které znemožňuje provést zkoušku na inaktivaci v konečné šarži, provede se místo šaržové zkoušky mezioperační zkouška na inaktivaci se směsí antigenů bezprostředně před přidáním adjuvans.

- a) *Bakteriální vakcíny.* Vybraná zkouška je vhodná pro použité vakcinační bakterie a sestává nejméně ze dvou pasáží v produkční živné půdě. Pokud byla k výrobě použita pevná živná půda, je vhodné použít tekutou půdu nebo jinou půdu předepsanou ve specifickém článku. Přípravek vyhovuje, jestliže nebyl nalezen žádný živý mikroorganismus.
- b) *Bakteriální toxoidy.* Zkouška na detoxikaci se provede ihned po výrobě toxoidu a případně po neutralizaci nebo odstranění inaktivačního agens. Vybraná zkouška je vhodná pro přítomný toxin nebo toxiny a je z dostupných zkoušek nejcitlivější. Pokud je riziko, že se navrátí toxicita, provede se další zkouška v konečné části výroby, ve které citlivost zkoušky nemůže být zpochybněna.
- c) *Virové vakcíny.* Vybraná zkouška, vhodná pro použitý vakcinační virus, sestává nejméně ze dvou pasáží v buňkách, kuřecích embryích nebo, pokud není k dispozici jiná vhodná citlivá metoda, na zvířatech. Počet buněk, kuřecích embryí nebo zvířat je dostatečný k zajištění požadované citlivosti zkoušky. Pro zkoušky v buněčných kulturách se nejméně 150 cm<sup>2</sup> buněčné vrstvy inokuluje 1,0 ml inaktivované sklizně. Přípravek vyhovuje, jestliže nebyl nalezen žádný živý virus nebo jiný mikroorganismus.

#### ***Výběr složení vakcíny a výběr vakcinačního kmene***

Pro výběr složení vakcíny a výběr vakcinačního kmene se vyhodnotí důležitá hlediska, včetně bezpečnosti, účinnosti a stability. Všeobecné požadavky na hodnocení bezpečnosti a účinnosti jsou uvedeny ve stati Hodnocení bezpečnosti veterinárních vakcín (5.2.6) a v části Hodnocení účinnosti veterinárních vakcín (5.2.7). Tyto požadavky mohou být více upřesněny v odpovídajících člácích.

Důkaz stability se získává prokázáním navržené doby použitelnosti. Těmito důkazy se rozumějí výsledky titrací virů, počtu bakterií nebo zkoušek účinnosti prováděných v pravidelných intervalech až do doby tří měsíců po době použitelnosti nejméně na třech reprezentativních, po sobě vyrobených šaržích skladovaných v doporučených skladovacích podmínkách. Dále se případně berou v úvahu výsledky stanovení vlhkosti (lyofilizované přípravky), fyzikální zkoušky adjuvans, chemické zkoušky takových látek, jako jsou např. pomocné konstituens a protimikrobní konzervační látky a hodnota pH.

Kde je to vhodné, provádí se stabilitní studie rekonstituované vakcíny, při níž se použije přípravek rozpuštěný podle navrženého doporučení.

#### ***Konečná várka vakcíny***

Konečná várka vakcíny se připraví kombinací jedné nebo více šarží antigenu, který vyhověl všem platným požadavkům a dalších pomocných látek, jako je adjuvans, stabilizátory, protimikrobní konzervační látky a rozpouštědla.

**Protimikrobní konzervační látky.** Protimikrobní konzervační látky slouží k prevenci znehodnocení nebo k prevenci nežádoucích účinků způsobených mikrobiální kontaminací během používání vakcín. Nejsou obsaženy v lyofilizovaných produktech, ale je-li to oprávněno, vzhledem k maximální doporučené době použití po rekonstituci, mohou být součástí rozpouštědel pro vícedávkové lyofilizované přípravky. V jednodávkových tekutých přípravcích není obecně přítomnost protimikrobních konzervačních látek přijatelná, ale může být přijatelná, když se např. stejná vakcína plní do jednodávkových i vícedávkových obalů. Ve vícedávkových tekutých přípravcích se hodnotí potřeba účinné protimikrobní konzervace vzhledem k pravděpodobné kontaminaci během používání a maximální doporučené době použití po probodnutí obalu.

Účinnost protimikrobních konzervačních látek po dobu platnosti se během vývojových studií prokazuje pro oprávněnou autoritu.

Účinnost protimikrobních konzervačních látek se hodnotí, jak je popsáno v obecné stati (5.1.3). U vícedávkových přípravků se u vzorků navíc sleduje účinnost protimikrobní ochrany požadavku nejdelší doba použití, která začíná od probodnutí obalu. Pokud nemohou být splněny požadavky A ani požadavky B, pak se v oprávněných případech u vakcín pro veterinární použití použijí tyto požadavky: Po inkubaci za 24 h a 7 dnů nedochází ke zvýšení počtu bakterií, ve 14 dnech dojde ke snížení počtu o 3 log, po 28 dnech nedochází ke zvýšení počtu bakterií. Po inkubaci za 14 dní a po 28 dnech nedochází ke zvýšení počtu hub.

Použití antibiotik jako protimikrobních konzervačních látek není přijatelné.

V inaktivovaných vakcínách, kde by mohly pomocné složky interferovat ve zkoušce inaktivace, se tato zkouška provede při výrobě konečné várky vakcíny, po kombinaci různých šarží antigenů, ale před přidáním jakékoli pomocné látky. Potom se může zkouška inaktivace u konečné várky a šarže vynechat.

Určité zkoušky se mohou spíše provádět v konečné várce vakcíny než na šarži nebo šaržích z ní připravených. Jsou to zkoušky na protimikrobní konzervační látky, na volný formaldehyd, na bezpečnost a účinnost inaktivovaných vakcín.

### **Šarže**

Pokud není v článku předepsáno jinak, plní se konečná várka vakcíny asepticky do sterilních zabezpečených obalů, které se potom uzavírají tak, aby se vyloučila kontaminace.

**Fyzikální zkoušky.** Vakcína obsahující olejové adjuvans se zkouší vhodnou metodou na viskozitu a výsledky jsou v rozmezí určeném pro přípravek. Prokáže se stabilita emulze.

**Chemické zkoušky.** Provede se stanovení koncentrace takových složek, jako je hliník a protimikrobní konzervační látky, aby se prokázalo, že jsou v rozmezí určeném pro přípravek.

**Hodnota pH.** U tekutých přípravků a rozpouštědel se stanoví hodnota pH a prokáže se, že je v rozmezí určeném pro přípravek.

**Voda,** semimikrostanovení (2.5.12). Kde je to vhodné, stanoví se u lyofilizovaných přípravků obsah vody a prokáže se, že je v rozmezí určeném pro přípravek.

Pouze ta šarže, která vyhověla všem požadavkům uvedeným ve zkouškách totožnosti, zkouškách na čistotu a ve stanovení účinnosti nebo též požadavkům jednotlivých lékopisných článků, může být uvolněna k použití. Se souhlasem oprávněné autority mohou být vynechány určité zkoušky šarže, jestliže mezioperační zkoušky dávají stejnou nebo lepší záruku, že šarže vyhovuje, nebo byly provedeny alternativní zkoušky validované se zřetelem na lékopisné metody.

### **Zkoušky na čistotu**

*Jednotlivé články rovněž určují zkoušky, které mají být provedeny u každé jednotlivé vakcíny.*

**Formaldehyd** (2.4.18). Použije se metoda B, jestliže byl použit disiřičitan sodný k neutralizaci přebytečného formaldehydu. Jestliže byl při výrobě použit formaldehyd, není obsah volného formaldehydu vyšší než 0,5 g/l, pokud nebyla prokázána bezpečnost vyšší koncentrace.

**Fenol** (2.5.15). Pokud vakcína obsahuje fenol, není jeho obsah vyšší než 5 g/l.

**Sterilita** (2.6.1). Předepisuje-li to článek, vyhovují vakcíny zkoušce na sterilitu. Je-li objem tekutiny v obalu vyšší než 100 ml, použije se, je-li to možné metoda membránových filtrů. Nemůže-li se metoda membránových filtrů použít, provede se metoda přímého očkování.

Pokud je objem každého obalu 20 ml nebo více, je nejmenší množství použité do každé živné půdy 10 % obsahu nebo 5 ml, podle toho, co je méně.

Přiměřené množství vzorků (2.6.1) ke zkoušení je 1 % ze šarže - nejméně čtyři a nejvíce deset.

**Mykoplazmata** (2.6.7). Předepisuje-li to článek, vakcína vyhovuje zkoušce na mykoplazmata.

**Bezpečnost.** Všeobecně se vstříkují doporučeným způsobem dvě dávky inaktivované vakcíny a/nebo deset dávek živé vakcíny. Pro složené vakcíny, pokud to popis povoluje, se může zkouška provést s oddělenými složkami. Není-li to možné, bude nutné pro účely zkoušky snížit předepsaný počet dávek živé vakcíny, pokud by vstříknutí deseti dávek znamenalo podání neúnosně vysokého množství inaktivované složky. Zvířata se pozorují po nejdelší dobu uvedenou ve specifickém článku. Nejsou pozorovány žádné abnormální lokální či systémové reakce.

## Uchovávání

Chráněny před světlem, při teplotě ( $5 \pm 3$ ) °C, pokud není v článku určeno jinak. Pokud není stanoveno jinak, není povoleno zmrazit tekuté přípravky.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- že přípravek je určen pro veterinární použití,
- objem přípravku a počet dávek v obalu,
  
- způsob podání,
- použitý typ nebo typy bakterií či virů a u živých vakcín nejnižší počet živých bakterií nebo nejnižší titer viru,
- kde je to vhodné, u inaktivovaných vakcín minimální účinnost v mezinárodních jednotkách,
- kde je to vhodné, název a množství použité protimikrobní konzervační látky nebo jiné látky přidané do vakcíny,
- název každé přidané látky, která může způsobit vedlejší reakce,
- u lyofilizovaných vakcín:
  - název nebo složení a objem tekutiny která se má přidat k rekonstituci,
  - doba, za kterou je nutno spotřebovat vakcínu po rekonstituci,
- u vakcín s olejovým adjuvans uvést, že pokud se vakcína náhodou vstříkne člověku, je nutné ihned vyhledat lékaře,
- živočišný druh, pro který je vakcína určena,
- indikace vakcíny,
- návod k použití,
- doporučené dávky pro různé druhy zvířat.

## Vaginalia

### Vaginální přípravky



2001

Jsou to tekuté, polotuhé nebo tuhé přípravky určené k aplikaci do pochvy, zpravidla k místnímu účinku. Obsahují jednu nebo více léčivých látek ve vhodném základu.

Obaly pro vaginální přípravky, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a příslušné části) a Obaly (3.2 a příslušné části).

Rozlišuje se několik druhů vaginálních přípravků:

- vaginální kuličky,
- vaginální tablety,
- vaginální tobolky,
- vaginální roztoky, emulze a suspenze,
- tablety pro přípravu vaginálních roztoků a suspenzí,
- polotuhé vaginální přípravky,
- vaginální pěny,
- vaginální tampony s léčivou.

## Výroba

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci vaginálních přípravků se používá vhodných způsobů k zajištění jejich mikrobiální čistoty; příslušná doporučení jsou ve statí Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

## Zkoušení

**Obsahová stejnoměrnost (2.9.6).** Není-li předepsáno a schváleno jinak, pevné a tuhé jednodávkové přípravky s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo nižším než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce A (vaginální

tablety) nebo zkoušce B (vaginální kuličky, vaginální tobolky) na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavky zkoušky se vztahují jen na ty látky, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

**Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5).** Pevné a tuhé jednodávkové přípravky vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny obsažené léčivé látky, nevyžaduje se zkouška na hmotnostní stejnoměrnost.

**Využitelná hmotnost nebo objem (2.9.28).** Tekuté a polotuhé vaginální přípravky dodané v jednodávkovém obalu vyhovují zkoušce.

**Disoluce.** Použije se vhodná zkouška k ověření příslušného uvolňování léčivé látky (látek) z pevného nebo tuhého jednodávkového přípravku, např. jedna ze zkoušek uvedených ve stati Zkouška disoluce pevných jednodávkových lékových forem (2.9.3).

Provádí-li se zkouška disoluce, neprovádí se zkouška rozpadavosti.

## Globuli vaginales

### Vaginální kuličky

*Synonyma.* Globuli, Suppositoria vaginalia, poševní kuličky

Jsou to tuhé jednodávkové přípravky různého tvaru, obvykle vejčitého. Mají objem a konzistenci vhodné k aplikaci do pochvy. Léčivá látka (léčivé látky) je dispergována nebo rozpuštěna ve vhodném základu, který může být rozpustný nebo dispergovatelný ve vodě nebo tající při teplotě těla. Kde je to nutné, mohou být přidány pomocné látky, jako jsou rozpouštědla, adsorbenty, povrchově aktivní látky, kluzné látky, protimikrobní přísady a barviva schválená oprávněnou autoritou.

### Výroba

Vaginální kuličky se obvykle vyrábějí litím do formy. Pokud je to požadováno, zajistí se měřením vhodná a kontrolovaná velikost částic účinné látky. Je-li třeba, nechají se léčivé látky předem projít vhodným sítem.

Jsou-li vaginální kuličky připravovány litím, hmota s léčivými látkami se zahřátím roztaví a nalije do vhodných forem. Ochlazením vaginální kuličky ztuhnou. Pro tento způsob přípravy jsou vhodné různé pomocné látky, jako např. tuhý tuk, makrogoly, kakaový olej a různé gelotvorné směsi tvořené např. želatinou, vodou a glycerolem.

Použije se vhodná zkouška k ověření příslušného uvolňování léčivé látky (léčivých látek) z přípravku s prodlouženým místním účinkem.

Kde je to vhodné, provede se zkouška pevnosti čípků a vaginálních kuliček (2.9.24).

### Zkoušení

**Rozpadavost.** Pokud se nejedná o přípravky s prodlouženým místním účinkem, vyhovují Zkoušce rozpadavosti rektálních a vaginálních přípravků (2.9.2). Hodnotí se stav vaginálních kuliček po 60 min, není-li předepsáno a schváleno jinak.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

## Tabulettae vaginales

### Vaginální tablety

Jsou to pevné jednodávkové přípravky. Obvykle odpovídají definici nebalených nebo potahovaných tablet uvedeně v článku *Tabulettae*.

## Výroba

Použije se vhodná zkouška k ověření vhodného uvolňování účinné látky (látek) z přípravku s prodlouženým místním účinkem.

## Zkoušení

**Rozpadavost.** Pokud se nejedná o přípravky s prodlouženým místním účinkem, vyhovují Zkoušce rozpadavosti rektálních a vaginálních přípravků (2.9.2). Hodnotí se stav vaginálních tablet po 30 min, pokud není předepsáno a schváleno jinak.

## Capsulae vaginales

### Vaginální tobolky

*Synonymum.* Vaginální kapsle

Jsou to tuhé jednodávkové přípravky. Jsou podobné měkkým tobolkám, od nichž se liší velikostí a tvarem. Vaginální tobolky mají různý tvar, nejčastěji vejčitý. Vaginální tobolky jsou hladké a přípravek má jednotný vzhled.

## Výroba

Použije se vhodná zkouška k ověření příslušného uvolňování léčivé látky (léčivých látek) z přípravku s řízeným uvolňováním nebo prodlouženým místním účinkem.

## Zkoušení

**Rozpadavost.** Pokud se nejedná o přípravky s řízeným uvolňováním nebo prodlouženým místním účinkem, vyhovují Zkoušce rozpadavosti rektálních a vaginálních přípravků (2.9.2). Hodnotí se stav vaginálních tobolek po 30 min, pokud není předepsáno a schváleno jinak.

## Solutiones, emulsiones et suspensiones vaginales

### Vaginální roztoky, emulze a suspenze

Jsou to tekuté přípravky určené k aplikaci do pochvy k místnímu účinku, k výplachům nebo k diagnostickému účinku. Mohou obsahovat vhodné pomocné látky, např. látky upravující viskozitu přípravku, stabilitu pH nebo zvyšující rozpustnost léčivé látky (léčivých látek) nebo látky zvyšující stabilitu přípravku. Tyto pomocné látky neovlivňují nepříznivě léčebný účinek přípravku a v použitých koncentracích nejsou příčinou přílišné místní dráždivosti.

Ve vaginálních emulzích se mohou oddělovat fáze, které jsou snadno protřepáním znovu homogenizovatelné. Vaginální suspenze mohou obsahovat sediment, který lze snadno roztrpět; takto vzniklá suspenze je natolik stabilní, aby bylo umožněno podání homogenního přípravku.

Vaginální roztoky, emulze a suspenze jsou dodávány v jednodávkových obalech. Obal je upraven k podání přípravku do pochvy nebo je přiložen vhodný aplikátor.

Při výrobě vaginálních suspenzí se měřením zajistí vhodná a kontrolovaná velikost částic s ohledem na způsob použití.

## Tablettae pro solutione aut suspensione vaginali

### Tablety pro přípravu vaginálních roztoků a suspenzí

Jsou to jednodávkové přípravky, které se před podáním rozpouštějí nebo dispergují ve vodě. Mohou obsahovat pomocné látky k usnadnění rozpuštění nebo dispergace a k zabránění shlukování.

S výjimkou zkoušky na rozpadavost vyhovují tablety pro přípravu vaginálních roztoků a suspenzí článku *Tabletatae*.

Po přípravě roztoku nebo suspenze rozpuštěním nebo dispergací vyhovují požadavkům na vaginální roztoky nebo vaginální suspenze, kde je to vhodné.

**Rozpadavost.** Tablety pro přípravu vaginálních roztoků nebo suspenzí se rozpadají do 3 min při zkoušce rozpadavosti tablet a tobolek (2.9.1) za použití vody R při teplotě 15 °C až 25 °C.

### **Označování**

V označení na obalu se uvede:

- způsob přípravy vaginálních roztoků nebo suspenzí,
- podmínky a doba uchovávání vaginálních roztoků a suspenzí po přípravě.

## **Vaginalia semisolida**

### **Polotuhé vaginální přípravky**

Jsou to masti, krémy nebo gely.

Jsou často dodávány jako jednodávkové přípravky v obalech s vhodným aplikátorem.

Polotuhé vaginální přípravky vyhovují požadavkům článku *Unguenta*.

## **Spumae vaginales**

### **Vaginální pěny**

*Synonymum.* Musci vaginales

Vyhovují požadavkům článku *Spumae medicatae*.

## **Tampona vaginala medicata**

### **Vaginální tampony s léčivý**

Jsou to tuhé jednodávkové přípravky určené k zavedení do pochvy na určenou dobu.

Vyhovují požadavkům článku *Tampona medicata*.

213. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Aloe extractum siccum normatum* doplňuje článek *Althaeae sirupus*, který zní:

”

## Althaeae sirupus

Proskurníkový sirup

*Synonymum.* Sirupus althaeae

N

Je to koncentrovaný roztok sacharosy ve výluhu z proskurníkového kořene konzervovaný methylparabenem.

### Příprava

Althaeae radix (5 600)	25,0 g
Ethanolum 96% (V/V)	20,0 g
Aqua purificata	400,0 g
Sacharosum	640,0 g
Methylparabenum	1,5 g

Proskurníkový kořen předem omytý studenou čištěnou vodou se ve skleněné, porcelánové nebo smaltované nádobě macekuje 2 h při pokojové teplotě ve směsi 10 g ethanolu 96% (V/V) a 400 g vody za občasného promíchávání. Výluh se zfiltruje vhodným filtrem; zbylá droga se nelisuje. K 360 g takto připraveného výluhu se přidá roztok methylparabenu v 10 g ethanolu 96% (V/V) a sacharosa a krátce se svaří na sirup. Ten se doplní horkou čerstvě převařenou čištěnou vodou na 1000 g.

### Vlastnosti

Mírně opalizující nažloutlá hustá tekutina, charakteristického pachu a chuti.

### Zkoušky totožnosti

- A. K 5 ml se přidá 0,2 ml *amoniaku RS1*; roztok se zbarví žlutě.
- B. Ke 2,5 ml se po částech přidá 10 ml *lihu 96% R* a protřepe se; směs se zfiltruje a zředí se 10 ml *vody R*. Ke 2 ml filtrátu se přidá asi 0,05 g *resorcinolu R*, 0,5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a zahřívá se na vodní lázni; tekutina se zbarví červeně (*sacharosa*).
- C. Ke 2 ml se přidá 0,2 ml *zkoumadla Millonova R* a zahřeje se na vodní lázni; tekutina se zbarví červeně (*parabeny*).

### Zkoušky na čistotu

**Hustota.**  $\rho_{20} = 1,30 \text{ g/cm}^3$  až  $1,32 \text{ g/cm}^3$ .

**Index lomu.**  $n_D^{20} = 1,445$  až  $1,456$ .

**Škrobový sirup.** 10 ml se vaří s asi 10 mg *aktivního uhlí R* a 10 ml *vody R* do odbarvení. Zfiltruje se a 1 ml bezbarvého filtrátu okyseleného 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* se přidá 10 ml *ethanolu R*; filtrát se nezakalí ani po silném protřepání.

### Uchovávání

Chráněn před světlem, při teplotě 8 °C až 15 °C.

## Označování

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní přísady.

“

214. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek Ichthammoli unguentum zní:

”

---

## Ichthammoli unguentum

N

### Ichthamolová mast

corr2001

*Synonymum.* Unguentum ichthamoli

---

Je to hydrofobní mast s ichthamolem.

Obsahuje nejméně 0,75 % celkové síry (S, A<sub>r</sub> 32,066).

## Příprava

Ichthammolum	100,0 g
Aqua purificata	50,0 g
Alcoholum adipis lanæ unguentum	850,0 g

Ichthamol se smíchá s horkou čištěnou vodou, po vychladnutí se doplní čištěnou vodou do 150 g a tekutina se po částech přimíchává k masti s alkoholy tuku z ovčí vlny.

## Vlastnosti

Hnědočerná mast, charakteristického pachu.

## Zkoušky totožnosti

- A.** Asi 5 g se smíchá s 30 ml vroucí vody R a zahřívá se v kádince na vodní lázni tak dlouho, až se vrstva rozpuštěné masti vyjasní. Po ochlazení se vodná vrstva oddělí a zbytek se použije ve zkoušce C. Vodná vrstva se zfiltruje, odpaří na misce do sucha a odparek se rozpustí v 10 ml vody R. K jedné polovině roztoku se přidá hydroxid sodný 1 mol/l RS do alkalické reakce a zahřeje se; unikající páry páchnou po amoniaku a barví navlhčený papír lakmusový červený R modře (amoniak). Potom se roztok odpaří, odparek se spálí a k zuhelnatělému zbytku se přidá kyselina chlorovodíková 10% RS; vyvíjí se sirovodík (síra).
- B.** Ke druhé polovině roztoku ze zkoušky A se po částech přidává kyselina dusičná R, pokud se vylučuje tmavá pryskyřičná hmota. Tekutina se zfiltruje a k filtrátu se přidá chlorid barnatý RS1; vylučuje se bílá sraženina nerozpustná v kyselině chlorovodíkové 10% RS (síraný).
- C.** 0,1 g zbytku ze zkoušky A se rozpustí v 5 ml chloroformu R, přidá se 1 ml acetanhydridu R a 0,1 ml kyseliny sírové R a opatrně se promíchá; roztok se zbarví sytě zeleně (cholesterol).



### Stanovení obsahu

**Celková síra.** 2,500 g se v platinovém kelímku smíchá s 2 g *uhličitanu sodného bezvodého R* a 1,5 g *dusičnanu draselného R*, opatrně se spálí a žihá tak dlouho, až je obsah kelímku bílý. Po vychladnutí se tavenina digeruje horkou vodou R, tekutina se zfiltruje a kelímek se několikrát propláchne horkou vodou R. Zbytek na filtru se rovněž promyje několikrát malým množstvím horké vody R. Spojené filtráty se zředí vodou R na 200 ml, okyslí se 25 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a roztok se zahřívá k varu, až ustane vývoj oxidu uhličitého. Potom se přidá 30 ml horkého *chloridu barnatého RSI*, digeruje se na vodní lázni a nechá se stát přes noc. Potom se sraženina zachytí kvantitativním filtrem nebo ve zváženém vyžíhaném filtračním kelímku, promyje se horkou vodou R do vymizení chloridových iontů, vysuší se, vyžihá do konstantní hmotnosti a po vychladnutí v exsikátoru se zváží.

1 g zbytku (síranu barnatého) odpovídá 137,3 mg celkové síry, jejíž obsah se vyjádří v procentech.

### Uchovávání

Viz článek Unguenta.  
Chráněna před světlem.

“

215. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek Immunoglobulinum humanum anti-D zní:

”

## Immunoglobulinum humanum anti-D

Lidský imunoglobulin anti-D



2001

Je to tekutý nebo lyofilizovaný přípravek obsahující imunoglobuliny, zvláště imunoglobulin G. Přípravek je určen k nitrovalovému podání. Získává se z plazmy D-negativních dárců krve imunizovaných proti antigenu D. Obsahuje specifické protilátky proti antigenu D červených krvinek a může také obsahovat malá množství jiných krevních skupinových antigenů. Může se přidat normální lidský imunoglobulin.

Vyhovuje článku *Immunoglobulinum humanum normale* s výjimkou minimálního počtu dárců a minimálního obsahu celkových bílkovin.

### Výroba

**Stabilita.** U tekutých přípravků se u každé šarže provede na konečném výrobku zrychlená stabilitní zkouška zahříváním při 37 °C po 4 týdny; pokles anti-D účinnosti po zahřívání nepřekročí 20 % výchozí hodnoty.

### Stanovení účinnosti

Provede se stanovení lidského imunoglobulinu anti-D (2.7.13). Stanovená účinnost není menší než deklarovaná účinnost. Intervaly spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) stanovené účinnosti jsou v rozmezí 80 % až 120 %.

## Uchovávání

Viz článek *Immunoglobulinum humanum normale*.

## Označování

Viz článek *Immunoglobulinum humanum normale*.

V označení na obalu se uvede počet mezinárodních jednotek v obalu.

“

216. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Immunoglobulinum humanum anti-D* doplňuje článek *Immunoglobulinum humanum anti-D ad usum intravenosum*, který zní:

”

---

## Immunoglobulinum humanum anti-D ad usum intravenosum



Lidský imunoglobulin anti-D pro intravenózní podání

---

Je to tekutý nebo lyofilizovaný přípravek obsahující imunoglobuliny, zvláště imunoglobulin G. Získává se z plazmy D-negativních dárců imunizovaných proti antigenu D. Obsahuje specifické protilátky proti antigenu D červených krvinek a může také obsahovat malá množství jiných krevních skupinových protilátek. Může se přidat normální lidský imunoglobulin pro intravenózní podání.

Vyhovuje článku *Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum* s výjimkou minimálního počtu dárců, minimálního obsahu celkových bílkovin a limitu pro osmolalitu. U přípravků vyrobených metodou eliminující imunoglobuliny o jiné než anti-D specifitě, je-li to schváleno, není požadována zkouška na protilátky proti povrchovému antigenu hepatitidy B; provede se vhodná zkouška na Fc funkci místo zkoušky uvedené ve stati 2.7.9, která není vhodná pro tento přípravek.

## Výroba

**Stabilita.** U tekutých přípravků se u každé šarže provede na konečném výrobku zrychlená stabilitní zkouška zahříváním při 37 °C po 4 týdny; pokles anti-D účinnosti po zahřívání nepřekročí 20 % výchozí hodnoty.

## Stanovení účinnosti

Provede se na stanovení lidského imunoglobulinu anti-D (2.7.13). Stanovená účinnost není menší než deklarovaná účinnost. Interval spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) stanovené účinnosti jsou v rozmezí 80 % až 120 %.

## Uchovávání

Viz článek *Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum*.

**Označování**

Viz článek *Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum*.

V označení na obalu se uvede počet mezinárodních jednotek v obalu.

“

217. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Immunoglobulinum humanum tetanicum* doplňuje článek *Immunoglobulinum humanum varicellae ad usum intravenosum*, který zní:

”

---

**Immunoglobulinum humanum varicellae ad usum intravenosum**

2001

---

**Lidský imunoglobulin proti planým neštovicím pro intravenózní podání**

---

Je to tekutý nebo lyofilizovaný přípravek obsahující imunoglobuliny, zvláště imunoglobulin G. Získává se z plazmy vybraných dárců obsahující protilátky proti lidskému herpesviru 3 (virus varicella-zoster 1). Může se přidat normální lidský imunoglobulin pro intravenózní podání. Vyhovuje článku *Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum* s výjimkou minimálního počtu dárců, minimálního celkového obsahu bílkovin a limitu pro osmolalitu.

**Stanovení účinnosti**

Účinnost se stanoví porovnáním titru protilátek zkoušeného přípravku s titrem protilátek referenčního přípravku kalibrovaného v mezinárodních jednotkách za použití imunoanalýzy vhodné citlivosti a specifity (2.7.1).

Mezinárodní jednotka je účinnost obsažená v deklarovaném množství mezinárodního standardu lidského imunoglobulinu proti planým neštovicím. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

Deklarovaná účinnost je nejméně 25 m.j. v mililitru. Stanovená účinnost není menší než deklarovaná účinnost. Interval spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) stanovené účinnosti jsou v rozmezí 80 % až 125 %.

**Uchovávání**

Viz článek *Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum*.

**Označování**

Viz článek *Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum*.

V označení na obalu se uvede počet mezinárodních jednotek v obalu.

“

218. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Ipecacuanhae pulvis normatus* doplňuje článek *Ipecacuanhae tinctura normata*, který zní:

”

## † *Ipecacuanhae tinctura normata*

Hlavenková tinktura standardizovaná

*Synonymum.* Hlavenková tinktura titrovaná



Vyrábí se z drogy *Ipecacuanhae radix*. Obsahuje nejméně 0,18 % a nejvýše 0,22 % alkaloidů, počítaných jako emetin ( $C_{29}H_{40}N_2O_4$ ;  $M_r$  480,64).

### Výroba

Vyrábí se vhodným postupem uvedeným v článku *Tincturae*.

### Vlastnosti

Je to žlutohnědá tekutina.

### Zkouška totožnosti

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

*Zkoušený roztok.* 2,0 ml tinktury se smíchají se 2 ml vody R a 0,1 ml amoniaku 26% R a směs se protřepe 10 ml etheru R. Etherová vrstva se oddělí, vysuší se asi 2 g síranu sodného bezvodého R a zfiltruje se.

*Porovnávací roztok.* 2,5 mg emetiniumdichloridu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 26% R, methanolu R, ethylacetatu R a toluenu R (2 + 15 + 18 + 65) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se roztokem jodu R (5 g/l) v líhu 96% R, zahřívá se 10 min při 60 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramech zkoušeného i porovnávacího roztoku je v dolní části žlutá skvrna (emetin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je pod skvrnou emetinu světle hnědá skvrna (cefaëlin). Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Skvrna odpovídající emetinu fluoreskuje intenzivně žlutě a skvrna odpovídající cefaëlinu fluoreskuje světle modře. Na chromatogramu zkoušeného roztoku při pozorování v ultrafialovém světle jsou další slabě fluoreskující skvrny.

Tinktura z drogy *Cephaelis acuminata radix*: na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou skvrny emetinu a cefaëlinu přibližně stejně velké.

Tinktura z drogy *Cephaelis ipecacuanha radix*: na chromatogramu zkoušeného roztoku je skvrna emetinu výrazně větší než skvrna cefaëlinu.

### Zkoušky na čistotu

**Obsah ethanolu** (2.9.10). 95 % až 105 % obsahu uvedeného v označení.

**Methanol a 2-propanol** (2.9.11). Vyhovuje požadavkům zkoušky na methanol a 2-propanol uvedeným v článku *Tincturae*.

### Stanovení obsahu

10,00 g tinktury se nanese na chromatografickou kolonu délky asi 200 mm a vnitřního průměru asi 15 mm naplněnou 8 g oxidu hlinitého zásaditého R. Po vsáknutí do vrstvy oxidu hlinitého se vnitřní stěna kolony omyje třikrát vždy

2 ml *lihu 70% (V/V) R*. Eluuje se po částech 40 ml *lihu 70% (V/V) R*, tak aby nedošlo k rozvíření nebo vysušení povrchu vrstvy oxidu hlinitého. Eluát se sbírá do 100ml baňky a odpaří se na vodní lázni na asi 10 ml. Po ochlazení se přidá 10,00 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS* a 20 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. Přebytek kyseliny se titruje *hydroxidem sodným 0,02 mol/l VS* za použití *červeně methylové směsného indikátoru RS*.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS* odpovídá 4,807 mg celkových alkaloidů, počítáno jako emetin ( $C_{29}H_{40}N_2O_4$ ).

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.  
Separandum.

“

219. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Kalii iodidi oculoguttae* doplňuje článek *Liquiritiae extractum fluidum ethanolicum normatum*, který zní:

”

## Liquiritiae extractum fluidum ethanolicum normatum

Lékořičový extrakt tekutý lihový standardizovaný  
*Synonymum*. Tekutý lékořičový lihový extrakt titrováný



2001

Vyrábí se z drogy *Liquiritiae radix*. Obsahuje 3,0 % až 5,0 % kyseliny glycyrrhizinové ( $C_{42}H_{62}O_{16}$ ,  $M_r$  823).

### Výroba

Vyrábí se z drogy a *lihu R 70% (V/V)* vhodným postupem pro tekuté extrakty uvedeným v článku *Extrakta*.

### Vlastnosti

Tmavě hnědá čirá tekutina, nevýrazného charakteristického pachu a sladké chuti.

### Zkoušky totožnosti

Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu TLC F<sub>254</sub> pro chromatografii R*.  
*Zkoušený roztok*. 1,0 g se smíchá v 50ml baňce s kulatým dnem se 16,0 ml *vody R* a 4,0 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a zahřívá se 30 min na vodní lázni pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje. Filtr i baňka se suší 60 min při 105 °C. Filtr se vloží zpět do baňky, smíchá se s 20 ml *etheru R* a zahřívá se 5 min ve vodní lázni pod zpětným chladičem při 40 °C. Po ochlazení se zfiltruje. Filtrát se odpaří do sucha a zbytek se rozpustí v 5,0 ml *etheru R*.  
*Porovnávací roztok*. 5,0 mg *kyseliny glycyrrhetinové R* a 5,0 mg *thymolu R* se rozpustí v 5 ml *etheru R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů po 10 μl obou roztoků. Využívá se směs objemových dílů *amoniaku 26% R*, *vody R*, *lihu 96% R* a *ethylacetatu R* (1 + 9 + 25 + 65) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 5 min na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku je v dolní polovině skvrna zhášeující fluorescenci (kyselina glycyrrhetinová). Vrstva se postříká *anisaldehydem RS*, suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní polovině fialová skvrna (kyselina glycyrrhetinová), v horní třetině červená skvrna (thymol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je

v dolní polovině fialová skvrna odpovídající polohou a zbarvením skvrně kyseliny glycyrrhetinové na chromatogramu porovnávacího roztoku a v horní třetině v poloze odpovídající poloze pod skvrnou thymolu na chromatogramu porovnávacího roztoku je žlutá skvrna (isoliquiritigenin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Ethanol** (2.9.10). 52 % (V/V) až 65 % (V/V).

**Methanol a 2-propanol** (2.9.11). Nejvýše 0,05 % (V/V) methanolu a nejvýše 0,05 % (V/V) 2-propanolu.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 1,000 g se zředí směsí objemových dílů *amoniaku zředěného RS1* a *vody R* (8 + 92) na 100 ml a odstředí se. 2,0 ml supernatantní tekutiny se zředí směsí objemových dílů *amoniaku zředěného RS1* a *vody R* (8 + 92) na 100,0 ml.

**Základní roztok.** 0,130 g *monoamoniumglycyrrhizinatu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku zředěného RS1* a *vody R* (8 + 92) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 5,0 ml základního roztoku se zředí směsí objemových dílů *amoniaku zředěného RS1* a *vody R* (8 + 92) na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10,0 ml základního roztoku se zředí směsí objemových dílů *amoniaku zředěného RS1* a *vody R* (8 + 92) na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 15,0 ml základního roztoku se zředí směsí objemových dílů *amoniaku zředěného RS1* a *vody R* (8 + 92) na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *kyseliny octové RS*, *acetonitrilu R* a *vody R* (6 + 30 + 64); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (c). Citlivost přístroje se nastaví tak, aby výšky píků činily nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříknou se odděleně porovnávací roztoky a stanoví se plochy píků.

Sestrojí se kalibrační křivka za použití koncentrací porovnávacích roztoků (g/100 ml) na ose x a odpovídajících ploch píků na ose y.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku. Za použití retenčních časů a ploch píků na chromatogramech porovnávacích roztoků se identifikuje a stanoví plocha píku kyseliny glycyrrhizinové na chromatogram zkoušeného roztoku.

Obsah kyseliny glycyrrhizinové (C<sub>42</sub>H<sub>62</sub>O<sub>16</sub>) v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$A \cdot \frac{5}{m} \cdot B \cdot \frac{822}{840},$$

v němž značí:

*A* - koncentraci monoamoniumglycyrrhizinatu ve 100 ml zkoušeného roztoku, odečtenou z kalibrační křivky v gramech,

*B* - deklarovaný obsah *monoamoniumglycyrrhizinatu CRL* v procentech,

*m* - hmotnost zkoušené látky v gramech,

822 - molekulovou hmotnost kyseliny glycyrrhizinové,

840 - molekulovou hmotnost monoamoniumglycyrrhizinatu (bezvodého).

### Uchovávání

Chráněn před světlem.

220. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Macrogoli unguentum* doplňuje článek *Matricariae extractum fluidum*, který zní:

”

## Matricariae extractum fluidum

Heřmánkový extrakt tekutý



Vyrábí se z drogy *Matricariae flos*. Obsahuje nejméně 0,30 % modré zbytkové silice.

### Výroba

Vyrábí se z drogy a směsi 2,5 dílů roztoku *amoniaku R* (10%), 47,5 dílů *vody R* a 50 dílů *lihu 96% R* vhodným způsobem uvedeným v článku *Extracta*.

### Vlastnosti

Nahnědlá čirá tekutina intenzivního charakteristického pachu a charakteristické hořké chuti. Je mísitelný s vodou a s lihem 96% za vzniku zákalu, dobře se rozpouští v lihu 50% (V/V).

### Zkoušky totožnosti

A. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu *F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 10 ml extraktu se protřepe v dělicí nálevce dvakrát 10 ml *pentanu R*. Spojené pentanové vrstvy se vysuší 2 g *síranu sodného bezvodého R* a zfiltrují se. Filtrát se odpaří na vodní lázni do sucha a zbytek se rozpustí v 0,5 ml *toluenu R*.

*Porovnávací roztok.* 4 mg *guajazulenu R*, 20 mg *levomenolu R* a 20 mg *bornylacetatu R* se rozpustí v 10 ml *toluenu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je několik skvrn zházejících fluorescenci, z nichž dvě hlavní skvrny jsou ve střední třetině (en-yn-dicykloether). Pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je ve střední části intenzivně modře fluoreskuující skvrna (herniarin). Vrstva se postříká *anisaldehydem RS*, suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve spodní třetině červenofialová až modrofialová skvrna (*levomenol*), ve střední třetině žlutohnědá až šedo zelená skvrna (*bornylacetat*) a v horní třetině červená až červenofialová skvrna (*guajazulen*). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v dolní třetině žlutohnědé až zelenožluté a fialové skvrny a červenofialová až modrofialová skvrna odpovídající *levomenolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku; nahnědlá skvrna (en-yn-dicykloether) odpovídá polohou *bornylacetatu* na chromatogramu porovnávacího roztoku; červená nebo červenofialová skvrna (*chamazulen*) odpovídá polohou *guajazulenu* na chromatogramu porovnávacího roztoku a těsně nad ní je jedna nebo dvě modré až modrofialové skvrny. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomny další slabě zbarvené skvrny.

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

*Zkoušený roztok.* Zkoušený extrakt.

*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 po 10 µl obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *ethylacetatu R* (7,5 + 7,5 + 18 + 67) po dráze 15 cm. Vrstva se suší při 100 °C až 105 °C a ještě teplá se postříká roztokem *difenylboryloxyethylaminu R* (10 g/l) v *methanolu R* a potom roztokem *makrogolu 400 R* (50 g/l) v *methanolu R*, suší se asi 30 min na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm.

Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části světla modře fluoreskující skvrna (kyselina chlorogenová), pod ní žlutohnědě fluoreskující skvrna (rutin) a nad ní žlutohnědě fluoreskující skvrna (hyperosid). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou: žlutohnědě fluoreskující skvrna odpovídající skvrně rutinu na chromatogramu porovnávacího roztoku, světle modře fluoreskující skvrna odpovídající skvrně kyseliny chlorogenové na chromatogramu porovnávacího roztoku, žlutohnědě fluoreskující skvrna odpovídající polohou hyperosidu na chromatogramu porovnávacího roztoku; nad žlutohnědě fluoreskující skvrnou je zeleně fluoreskující skvrna, několik namodrale nebo nazelenale fluoreskujících skvrn a v blízkosti čela nažloutle fluoreskující skvrna.

### Zkoušky na čistotu

**Ethanol** (2.9.10). 38 % (V/V) až 53 % (V/V).

**Methanol a 2-propanol** (2.9.11). Vyhovuje požadavkům zkoušky Methanol a 2-propanol uvedené v článku *Extracta*, odstavce *Extracta fluida*.

**Zbytek po odpaření.** Nejméně 12,0 %; stanoví se způsobem uvedeným v článku *Extracta*, odstavce *Extracta fluida*.

### Stanovení obsahu

20,0 g extraktu se v 1000ml baňce s kulatým dnem smíchá s 300 ml *vody R* a destiluje se do konečného objemu 200 ml destilátu. Destilát se převede do dělicí nálevky, přidá se 65 g *chloridu sodného R* a po rozpuštění se roztok protřepe třikrát vždy se 30 ml *pentanu R*, který byl použit k promytí zpětného chladiče a baňky. Spojené pentanové vrstvy se vysuší 2 g *síranu sodného bezvodého R* a zfiltrují se do vysušené (3 h v exsikátoru) a předem zvážené 100ml baňky s kulatým dnem. Vrstva síranu sodného bezvodého a filtr se promyjí dvakrát 20 ml *pentanu R*. Pentan se odpaří na vodní lázni při 45 °C. Zbytek pentanu se odstraní proudem vzduchu během 3 min. Baňka se 3 h suší v exsikátoru a zváží se. Zbytková silice je modrá (chamazulen).

### Uchovávání

V dobře uzavřeném obalu, chráněn před světlem.

“

221. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Plantaginis extractum fluidum* doplňuje článek *Plantaginis sirupus*, který zní:

”

---

## Plantaginis sirupus

N

Jitrocelový sirup

*Synonymum.* Sirupus plantaginis

---

Je to koncentrovaný roztok sacharosy ve výluhu z jitrocelového listu konzervovaný methylparabenem.

Příprava	
Plantaginis folium (5 600)	50,0 g
Aqua purificata	450,0 g
Sacharosum	640,0 g
Methylparabenum	1,5 g
Ethanolum 96% (V/V)	10,0 g



Na jitrocelový list se naleje vroucí čištěná voda a v dobře uzavřené nebo porcelánové nádobě se 4 h nechá stát za občasného promíchávání. Tekutina se zfiltruje vhodným filtrem, droga se ihned vylisuje a získaný výluh se rovněž zfiltruje. Obě tekutiny se spojí a doplní se na 360 g čištěnou vodou, kterou se promývala vylisovaná droga. Přidá se sacharosa a roztok methylparabenu v ethanolu 96% (V/V) a tato směs se svaří na sirup. Ten se zfiltruje vhodným filtrem a doplní se čerstvě převařenou a ještě horkou čištěnou vodou na 1000 g.

### Vlastnosti

Tmavě hnědá hustá tekutina, charakteristického pachu a chuti.

### Zkoušky totožnosti

A. Ke 2,5 ml se po částech přidá 10 ml *lihu 96% R* a protřepe se; směs se zfiltruje a zředí se 10 ml *vody R*. K 2 ml filtrátu se přidá asi 0,05 g *resorcinolu R*, 0,5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a zahřívá se na vodní lázni; tekutina se zbarví červeně (*sacharosa*).

B. Ke 2 ml se přidá 0,2 ml *zkoumadla Millonova R* a zahřeje se na vodní lázni; tekutina se zbarví červeně (*parabeny*).

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

*Zkoušený roztok.* 25 ml se dvakrát vytřepe 10 ml *ethylacetatu R*. Ethylacetatové výtřepky se zfiltrují přes chomáček vaty s asi 2 g *síranu sodného bezvodého R*, spojí se a na vodní lázni se odpaří do sucha. Odparek se rozpustí v 1 ml *methanolu R*.

*Porovnávací roztok.* 5 mg *žluti naftolové RS* 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. Vytvoří se směs objemových dílů *vody R*, *kyseliny octové ledové R* a *ethylacetatu R* (20 + 20 + 60) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a 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.**  $\rho_{20} = 1,304 \text{ g/cm}^3$  až  $1,320 \text{ g/cm}^3$ .

**Index lomu.**  $n_D^{20} = 1,450$  až  $1,456$ .

**Škrobový sirup.** 10 ml se vaří s asi 10 mg *aktivního uhlí R* a 10 ml *vody R* do odbarvení. Zfiltruje se a 1 ml bezbarvého filtrátu okyseleného 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* se přidá 10 ml *ethanolu R*; filtrát se nezakalí ani po silném protřepání.

### Uchovávání

Chráněn před světlem, při teplotě 8 °C až 15 °C.

### Označování

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní přísady.

222. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek Solutiones ad conservationem partium corporis zní:

”

## Solutiones ad conservationem partium corporis

Roztoky pro uchovávání orgánů



2001

Jsou to sterilní vodné přípravky pro uchovávání, ochranu a/nebo promývání tělních orgánů savců, určených k transplantaci.

Obsahují elektrolyty, které koncentrací přibližně odpovídají složení nitrobněčných elektrolytů.

Mohou obsahovat uhlovodíky (např. glukosu nebo mannitol), aminokyseliny, látky tvořící komplexy s vápníkem (např. citráty nebo fosforečnany), hydrokoloidy (např. škrob nebo deriváty želatiny) a další pomocné látky, např. látky určené k izotonizaci roztoku s krví, úpravě nebo nastavení hodnoty pH, k zamezení rozkladu složek, které však nesnižují účinnost přípravku, nebo v použitých koncentracích nejsou příčinou toxicity nebo zvýšené lokální dráždivosti. Roztoky pro uchovávání orgánů mohou také obsahovat léčivé látky, nebo tyto mohou být přidány těsně před použitím.

Při pozorování roztoků pro uchovávání orgánů za vhodných podmínek, jsou tyto roztoky čiré a prakticky prosté částic.

Mohou se připravovat také jako koncentrované roztoky, které se ředí na požadovaný objem předepsanou tekutinou těsně před použitím. Po naředění vyhovují požadavkům na roztoky pro uchovávání orgánů.

Před použitím se ochladí pod pokojovou teplotu, nejlépe na 2 °C až 6 °C, aby se dosáhlo snížení teploty orgánů a jejich metabolismu.

Kde je to vhodné, obaly na roztoky pro uchovávání orgánů vyhovují požadavkům článků Materiály používané na výrobu obalů (3.1 a další) a Obaly (3.2 a další). Roztoky pro uchovávání orgánů jsou dodávány ve skleněných obalech (3.2.1) nebo v jiných, např. plastových obalech (3.2.2 a 3.2.8). Těsnost obalů je zajištěna vhodným způsobem. Uzávěry zajišťují dostatečnou přilnavost, chrání před mikrobiálním a jiným znečištěním a obvykle umožňují bez otevření odebrání buď části, nebo celého obsahu. Plasty nebo elastomery, ze kterých jsou uzávěry vyrobeny, mají dostatečnou pevnost a pružnost, které umožňují proniknutí jehly bez nejmenšího uvolnění částic.

### Výroba

Roztoky pro uchovávání orgánů se připravují za použití materiálů a metod zaručujících jejich sterilitu a za podmínek omezujících kontaminaci a růst mikroorganismů; podmínky jsou uvedeny v článku Metody přípravy sterilních výrobků (5.1.1).

Pokud není oprávněnou autoritou uvedeno jinak, k přípravě roztoků pro uchovávání orgánů se použije *Aqua pro iniectione* a nepřidávají se protimikrobní přísady.

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,0 až 8,0; měří se zkoušený roztok. Zkouška se provádí za pokojové teploty.

**Osmolalita** (2.2.35). 250 mosmol/kg až 380 mosmol/kg; měří se zkoušený roztok.

**Hydroxymethylfurfural**. Jestliže zkoušený roztok obsahuje glukosu, vyhovuje následující zkoušce: k množství zkoušeného roztoku odpovídajícímu 25 mg glukosy se přidá 5,0 ml roztoku *p-toluidinu R* (100 g/l) ve 2-propanolu *R* obsahujícím 10 % (V/V) *kyseliny octové ledové R* a 1,0 ml roztoku *kyseliny barbiturové R* (5 g/l) a nechá se 2 min až 3 min stát. Absorbance tohoto roztoku (2.2.25) měřená při 550 nm není větší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem obsahujícího 10 µg *hydroxymethylfurfuralu R* ve stejném objemu jako zkoušený roztok.

**Kontaminace částicemi**. S 50 ml zkoušeného roztoku se provede zkouška na částice pod hranicí viditelnosti (2.9.19). Roztok obsahuje nejvýše 50 částic větších než 10 µm v mililitru a nejvýše 5 částic větších než 25 µm v mililitru.

Výrobky, u kterých je v označení na obalu uvedeno, že se použijí s koncovým filtrem, nepodléhají těmto požadavkům.

**Sterilita** (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14). Nejvýše 0,5 m.j. endotoxinu v mililitru.

**Pyrogenní látky** (2.6.8). Zkoušené roztoky, u kterých nelze provést validovanou zkoušku na bakteriální endotoxiny, vyhovují zkoušce na pyrogenní látky. Vstříkuje se 10 ml roztoku na kilogram hmotnosti králíka, jestliže není oprávněnou autoritou uvedeno jinak.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- že roztok není určen pro injekce,
- složení roztoku vyjádřené v gramech na litr a v milimolech na litr,
- jmenovitý objem roztoku pro uchovávání orgánů v obalu,
- osmolalita vyjádřená v miliosmolech na kilogram,
- že nespotebovaná část právě připraveného roztoku, koncentrovaného nebo zředěného roztoku se nesmí dále použít,
- podmínky uchovávání,
- kde je to vhodné, že roztok se používá ve spojení s koncovým filtrem.

V označení na obalu koncentrovaných roztoků se dodatečně uvede:

- že roztok musí být zředěn vhodnou tekutinou těsně před použitím.

“

223. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, články Vaccinum clostridii novyi B ad usum veterinarium, Vaccinum clostridii perfringentis ad usum veterinarium a Vaccinum clostridii septicis ad usum veterinarium znějí:

”

---

## Vaccinum clostridii novyi B ad usum veterinarium

Vakcína proti Clostridium novyi (typ B) pro veterinární použití



2001

Připravuje se z tekuté kultury vhodného kmene *Clostridium novyi* (typ B).

### Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Celá kultura nebo její filtrát, nebo směs obou se inaktivuje tak, aby se odstranila toxicita, ale imunogenita zůstala zachována. K toxoidům nebo inaktivovaným kulturám se může přidat vhodné adjuvans po zahuštění, bylo-li nutné.

### Výběr složení vakcíny

Vakcína je prokazatelně uspokojivá z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7). Imunogenita vakcíny pro každé cílové zvíře se prokáže, když aplikována podle doporučeného vakcinačního schématu stimuluje imunitní odpověď (např. tvorbu protilátek) shodnou s požadavky na přípravek.

### Zkoušení šarže

**Reziduální toxicita.** Zkoušku na reziduální toxicitu může výrobce vynechat, pokud se zkouška detoxikace bezprostředně po detoxikačním procesu provádí. Je-li riziko návratu toxicity, provede se druhá zkouška v nejzazším možném stupni výrobního procesu (viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*).

**Zkouška účinnosti šarže.** Zkoušku popsanou v odstavci Stanovení účinnosti není nezbytně nutné provádět při rutinním zkoušení šarží vakcíny. Proveďte se jednou nebo vícekrát podle rozhodnutí nebo souhlasu oprávněné autority. Kde se neprovede tato zkouška, použije se vhodná validovaná zkouška. Kritéria pro přijetí se stanoví ve vztahu k šarži, která prokazatelně měla vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti a která je vyhovující z hlediska imunogenity pro cílové druhy zvířat. Může se používat následující zkouška, prokáže-li se její dostatečná shoda se zkouškou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

Vakcinují se králíci jak je popsáno v odstavci Stanovení účinnosti, a připraví se séra. V jednotlivých sérech se stanoví titer protilátek proti alfa-toxinu *Cl. novyi* vhodnou metodou, např. imunochemicky (2.7.1) nebo neutralizací v buněčných kulturách. Použije se homologní referenční sérum kalibrované v mezinárodních jednotkách *Cl. novyi* alfa-antitoxinu. Vakcína vyhovuje zkoušce účinnosti, není-li zjištěný titer protilátek nižší než jejich titer v šarži vakcíny, která dala vyhovující výsledek ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti a která byla prokazatelně uspokojivá z hlediska imunogenity pro cílové druhy zvířat.

### Zkouška totožnosti

Vakcína po injekčním podání zvířatům, která nemají antitoxin novyi alfa podporuje tvorbu tohoto antitoxinu.

### Zkoušky na čistotu

**Bezpečnost.** Dvěma ovcím se doporučeným způsobem vstříkne dvojnásobek nejvyšší dávky uvedené v označení. Zvířata se pozorují nejméně 14 dní. Neprojeví se žádná významná místní ani systémová reakce.

**Zbytková toxicita.** Pěti myším hmotnosti 17 g až 22 g se podkožně vstříkne po 0,5 ml zkoušeného přípravku. Zvířata se pozorují 7 dní. Neprojeví se žádná významná místní ani systémová reakce.

**Sterilita.** Vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

### Stanovení účinnosti

Nejméně deseti zdravým králíkům starým tři až šest měsíců se podkožně vstříkne množství přípravku, které nepřesahuje nejnižší první dávku uvedenou v označení. Za 21 až 28 dní se tato zvířata přeočkují množstvím, které nepřesahuje nejnižší druhou dávku uvedenou v označení. Za 10 až 14 dní po přeočkování se králíkům odebere krev a vytvoří se směsný vzorek sér.

Účinnost směsného vzorku sér je nejméně 3,5 m.j. v mililitru.

Mezinárodní jednotka je specifická účinnost neutralizující alfa-toxin *Cl. novyi* obsažená v deklarovaném množství mezinárodního standardu, který obsahuje určité množství sušeného imunního koňského séra. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhlašuje Světová zdravotnická organizace.

Účinnost směsného vzorku sér králíků se stanoví porovnáním dávky potřebné k ochraně myši nebo jiných vhodných zvířat před toxickým účinkem neměnné dávky alfa-toxinu *Cl. novyi* s dávkou referenčního alfa-antitoxinu *Cl. novyi* kalibrovaného v mezinárodních jednotkách, nezbytnou k vytvoření stejné ochrany. K tomuto porovnání je zapotřebí vhodný přípravek alfa-toxinu *Cl. novyi*, který se použije jako zkušební toxin. Dávka zkušebního toxinu se stanoví proti referenčnímu přípravku, účinnost zkoušeného séra se stanoví porovnáním s referenčním přípravkem za použití zkušebního toxinu.

**Příprava zkušebního toxinu.** Zkušební toxin se připraví ze sterilního filtrátu asi pětidenní kultury *Cl. novyi* typu B v tekuté živné půdě a vysuší se vhodnou metodou. Zkušební toxin se vybírá podle stanovení dávky L+/10 a LD<sub>50</sub> pro myši. Doba pozorování je 72 h.

Vhodný alfa-toxin obsahuje nejméně jednu dávku L+/10 v 0,05 mg a nejméně 10 LD<sub>50</sub> v jedné dávce L+/10.

**Stanovení zkušební dávky toxinu.** Ve vhodné tekutině se připraví roztok referenčního přípravku tak, aby v 1 ml obsahoval 1 m.j. Roztok zkušebního toxinu ve vhodné tekutině se připraví tak, aby v 1 ml obsahoval přesně známé množství, např. 1 mg. Připraví se směs roztoků referenčního přípravku a zkušebního toxinu tak, aby každá směs obsa-

hovala 1,0 ml roztoku referenčního přípravku (1 m.j.) a jeden z řady stoupajících objemů roztoku zkušebního toxinu. Směsi se doplní vhodnou tekutinou na 2,0 ml a nechají se 60 min stát při pokojové teplotě. Pro každou směs se použijí nejméně dvě myši hmotnosti 17 g až 22 g, každé se nitrosvalově nebo podkožně vstříkne 0,2 ml a pozorují se 72 h. Uhyne-li všechny myši, je množství toxinu obsažené v 0,2 ml směsi vyšší než zkušební dávka. Neuhyne-li žádná myš, je množství toxinu obsažené v 0,2 ml směsi nižší než zkušební dávka. Potom se připraví čerstvé směsi tak, aby 2,0 ml každé směsi obsahovaly 1,0 ml roztoku referenčního přípravku (1 m.j.) a jeden z řady stoupajících objemů roztoku zkušebního toxinu (v řadě se sousedící objemy mezi sebou liší nejvýše o 20 % a řada přesahuje očekávaný limitní bod). Směsi se nechají 60 min stát při pokojové teplotě. Pro každou směs se použijí nejméně dvě myši, každé se nitrosvalově nebo podkožně vstříkne 0,2 ml a pozorují se 72 h. Zkouška se nejméně jedenkrát opakuje a výsledky u jednotlivých směsí se sečtou. Tak se získá řada výsledných součtů, z nichž každý představuje úmrtnost způsobenou směsí stejného složení.

Zkušební dávka toxinu je množství obsažené v 0,2 ml té směsi, která způsobí úhyn poloviny celkového počtu myší, jimž se podala.

### **Stanovení účinnosti králíčích sér**

*Předběžná zkouška.* Ve vhodné tekutině se rozpustí takové množství zkušebního toxinu, aby 1 ml obsahoval desetinasobek zkušební dávky (roztok zkušebního toxinu). Připraví se řada směsí roztoků zkušebního toxinu a zkoušeného séra tak, aby každá směs obsahovala 1,0 ml roztoku zkušebního toxinu a jeden z řady stoupajících objemů zkoušeného séra. Směsi se doplní vhodnou tekutinou na 2,0 ml a nechají se 60 min stát při pokojové teplotě. Pro každou směs se použijí nejméně dvě myši, každé se nitrosvalově nebo podkožně vstříkne 0,2 ml a pozorují se 72 h. Neuhyne-li žádná myš, obsahuje 0,2 ml směsi více než 0,1 m.j. Uhyne-li všechny myši, obsahuje 0,2 ml směsi méně než 0,1 m.j.

*Konečná zkouška.* Připraví se řada směsí roztoků zkušebního toxinu a zkoušeného séra tak, aby 2,0 ml každé směsi obsahovaly 1,0 ml roztoku zkušebního toxinu a jeden z řady stoupajících objemů zkoušeného séra (v řadě se sousedící objemy mezi sebou liší nejvýše o 20 % a řada přesahuje očekávaný limitní bod stanovený v předběžné zkoušce). Aby se potvrdila zkušební dávka toxinu, připraví se další směsi tak, aby 2,0 ml každé směsi obsahovaly 1,0 ml roztoku zkušebního toxinu a jeden z řady stoupajících objemů roztoku referenčního přípravku. Všechny směsi se nechají 60 min stát při pokojové teplotě a pro každou se použijí nejméně dvě myši, přičemž se dále postupuje tak, jak je popsáno v předběžné zkoušce. Zkoušená směs, která obsahuje 0,1 m.j. v 0,2 ml, je ta směs, která usmrtí shodný nebo téměř shodný počet myší jako referenční směs, která obsahuje 0,1 m.j. v 0,2 ml. Stanovení se nejméně jedenkrát opakuje a vypočítá se průměr všech platných stanovení. Zkouška je platná pouze tehdy, když výsledek referenčního přípravku je v rozmezí  $\pm 20$  % od očekávané hodnoty.

Intervaly spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) jsou stanoveny takto:

- 85 % až 114 %, použila-li se dvě zvířata na dávku,
- 91,5 % až 109 %, použila-li se čtyři zvířata na dávku,
- 93 % až 108 %, použilo-li se šest zvířat na dávku.

### **Uchovávání**

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

### **Označování**

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede:

- je-li přípravek toxoid, nebo vakcína připravená z celé inaktivované kultury, nebo je-li to směs obou,
- že se před použitím přípravek roztřepe,
- vytvořený imunizující účinek pro každý cílový druh (např. tvorba protilátek, ochrana před příznaky nemoci nebo infekcí).

## Vaccinum clostridii perfringentis ad usum veterinarium

Vakcína proti *Clostridium perfringens* pro veterinární použití



2001

Připravuje se z tekuté kultury vhodných kmenů *Clostridium perfringens* typu B, *Clostridium perfringens* typu C nebo *Clostridium perfringens* typu D nebo ze směsi těchto typů.

### Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Celé kultury nebo jejich filtráty, nebo směs obou se inaktivují tak, aby se odstranila toxicita, ale imunogenita zůstala zachována. K toxoidům a/nebo inaktivovaným kulturám se může přidat vhodné adjuvans.

### Výběr složení vakcíny

Vakcína je prokazatelně uspokojivá z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7). Imunogenita vakcíny pro každé cílové zvíře se prokáže, když aplikována podle doporučeného vakcinačního schématu stimuluje imunitní odpověď (např. tvorbu protilátek) shodnou s požadavky na přípravek.

### Zkoušení šarže

**Reziduální toxicita.** Zkoušku na reziduální toxicitu může výrobce vynechat, pokud se zkouška detoxikace provádí bezprostředně po detoxikačním procesu. Je-li riziko návratu toxicity, provede se druhá zkouška v nejzazším možném stupni výrobního procesu (viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*).

**Zkouška účinnosti šarže.** Zkoušku popsanou v odstavci Stanovení účinnosti není nezbytně nutné provádět při rutinním zkoušení šarží vakcíny. Provede se jednou nebo vícekrát podle rozhodnutí nebo souhlasu oprávněné autority. Kde se neprovede tato zkouška, použije se vhodná validovaná zkouška. Kritéria pro přijetí se stanoví ve vztahu k šarži, která měla vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti a která je vyhovující z hlediska imunogenity pro cílové druhy zvířat. Může se používat následující zkouška, prokáže-li se její dostatečná shoda se zkouškou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

Vakcinují se králíci, jak je popsáno v odstavci Stanovení účinnosti, a připraví se séra. V jednotlivých sérech se stanoví titr protilátek proti alfa-toxinu *Cl. perfringens* vhodnou metodou, např. imunochemicky (2.7.1) nebo neutralizací v buněčných kulturách. Použije se homologní referenční sérum kalibrované v mezinárodních jednotkách *Cl. perfringens* alfa-antitoxinu. Vakcína vyhovuje zkoušce účinnosti, není-li zjištěný titr protilátek nižší než jejich titr v šarži vakcíny, která dala vyhovující výsledek ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti a která vyhovovala z hlediska imunogenity pro cílové druhy zvířat.

### Zkoušky totožnosti

*Typ B.* Vakcína po injekčním podání zvířatům, která nemají beta- a epsilon-antitoxin, podporuje tvorbu těchto antitoxinů.

*Typ C.* Vakcína po injekčním podání zvířatům, která nemají beta-antitoxin, podporuje tvorbu tohoto antitoxinu.

*Typ D.* Vakcína po injekčním podání zvířatům, která nemají epsilon-antitoxin, podporuje tvorbu tohoto antitoxinu.

### Zkoušky na čistotu

**Bezpečnost.** Použijí se dvě zdravá vnímavá zvířata jednoho z druhů, pro které je přípravek určen. Každému zvířeti se doporučeným způsobem vstříkne dvojnásobek nejvyšší dávky uvedené v označení na obalu. Zvířata se pozorují 14 dní. Neprojeví se žádná významná místní ani systémová reakce.

**Zbytková toxicita.** Pěti myším o hmotnosti 17 g až 22 g se podkožně vstříkne po 0,5 ml zkoušeného přípravku. Zvířata se pozorují 7 dní. Neprojeví se žádná významná místní ani systémová reakce.

**Sterilita.** Vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

## Stanovení účinnosti

Nejméně deseti zdravým králíkům starým tři až šest měsíců se podkožně vstříkne zkoušený přípravek v dávce, která nepřesahuje nejnižší první dávku uvedenou v označení. Za 21 až 28 dní se tato zvířata přeočkují množstvím, které nepřesahuje nejnižší druhou dávku uvedenou v označení. Za 10 až 14 dní po přeočkování se králíkům odebere krev a vytvoří se směsný vzorek sér.

*Typ B.* Účinnost směsného vzorku sér je nejméně 10 m.j. beta-antitoxinu a nejméně 5 m.j. epsilon-antitoxinu v mililitru.

*Typ C.* Účinnost směsného vzorku sér je nejméně 10 m.j. beta-antitoxinu v mililitru.

*Typ D.* Účinnost směsného vzorku sér je nejméně 5 m.j. epsilon-antitoxinu v mililitru.

*Mezinárodní standard pro Clostridium perfringens beta-antitoxin.* Mezinárodní jednotka je specifická účinnost neutralizující beta-toxin *Clostridium perfringens* obsažená v deklarovaném množství mezinárodního standardu, který pozůstává z určitého množství sušeného imunního koňského séra. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

*Mezinárodní standard pro Clostridium perfringens epsilon-antitoxin.* Mezinárodní jednotka je specifická účinnost neutralizující epsilon-toxin *Clostridium perfringens* obsažená v deklarovaném množství mezinárodního standardu, který pozůstává z určitého množství sušeného imunního koňského séra. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

Účinnost směsného vzorku sér králíků se stanoví porovnáním dávky potřebné k ochraně myši nebo jiných vhodných zvířat před toxickým účinkem neměnné zkušební dávky beta-toxinu *Clostridium perfringens* nebo epsilon-toxinu *Clostridium perfringens* s dávkou referenčního beta-antitoxinu *Clostridium perfringens* nebo epsilon-antitoxinu *Clostridium perfringens* (podle toho, co je vhodné) kalibrovaného v mezinárodních jednotkách, nezbytnou k vytvoření stejné ochrany. K tomuto porovnání je zapotřebí vhodný přípravek beta- nebo epsilon-toxinu *Clostridium perfringens*. Dávka zkušebního toxinu se stanoví proti vhodnému referenčnímu přípravku; účinnost zkoušeného séra se stanoví porovnáním s referenčním přípravkem za použití vhodného zkušebního toxinu.

*Příprava zkušebního toxinu.* Zkušební toxin se připraví ze sterilního filtrátu čerstvé kultury *Clostridium perfringens* typu B, C nebo D v tekuté živné půdě a vysuší se vhodnou metodou. Podle potřeby se použije beta- nebo epsilon-toxin. Zkušební toxin se vybírá podle stanovení dávky L+ a LD<sub>50</sub> u beta-toxinu nebo dávky L+/10 a LD<sub>50</sub> u epsilon-toxinu. Stanovení se provádí na myších a doba jejich pozorování je 72 h.

Vhodný beta-toxin obsahuje nejméně jednu dávku L+ v 0,2 mg a nejméně 25 LD<sub>50</sub> v jedné L+ dávce. Vhodný epsilon-toxin obsahuje nejméně jednu dávku L+/10 v 0,005 mg a nejméně 20 LD<sub>50</sub> v jedné L+/10 dávce.

*Stanovení zkušební dávky toxinu.* Ve vhodné tekutině se připraví roztok referenčního přípravku tak, aby v 1 ml obsahoval 5 m.j. beta-antitoxinu *Clostridium perfringens* a 0,5 m.j. epsilon-antitoxinu *Clostridium perfringens*. Roztok zkušebního toxinu ve vhodné tekutině se připraví tak, aby 1 ml obsahoval přesně známé množství, např. 10 mg pro beta-toxin a 1 mg pro epsilon-toxin. Připraví se směs roztoků referenčního přípravku a zkušebního toxinu tak, aby každá směs obsahovala 2,0 ml roztoku referenčního přípravku a jeden z řady stoupajících objemů roztoku zkušebního toxinu. Směsi se doplní vhodnou tekutinou na 5,0 ml a nechají se 30 min stát při pokojové teplotě. Pro každou směs se použijí nejméně dvě myši hmotnosti 17 g až 22 g a každé se intravenózně nebo intraperitoneálně vstříkne 0,5 ml; pozorují se 72 h. Uhynou-li všechny myši, je množství toxinu obsažené v 0,5 ml směsi vyšší než zkušební dávka. Neuhyne-li žádná myš, je množství toxinu obsažené v 0,5 ml směsi nižší než zkušební dávka. Potom se připraví čerstvé směsi tak, aby 5,0 ml každé směsi obsahovalo 2,0 ml roztoku referenčního přípravku a jeden z řady stoupajících objemů zkušebního toxinu (v řadě se sousedící objemy mezi sebou liší nejvýše o 20 % a řada přesahuje očekávaný limitní bod). Směsi se nechají 30 min stát při pokojové teplotě. Pro každou směs se použijí nejméně dvě myši a každé se intravenózně nebo intraperitoneálně vstříkne 0,5 ml; pozorují se nejméně 72 h. Zkouška se nejméně jedenkrát opakuje a výsledky u jednotlivých směrů se sečtou. Tak se získá řada výsledných součtů, z nichž každý představuje úmrtnost způsobenou směsí stejného složení.

Zkušební dávka toxinu je množství obsažené v 0,5 ml té směsi, která způsobí úhyn poloviny celkového počtu myši, jimž se podala.

## Stanovení účinnosti králíčích sér

*Předběžná zkouška.* Ve vhodné tekutině se rozpustí takové množství zkušebního toxinu, aby 2,0 ml obsahovaly desetinásobek zkušební dávky (roztok zkušebního toxinu). Připraví se řada směrů roztoků zkušebního toxinu a zkoušeného séra tak, aby každá směs obsahovala 2,0 ml roztoku zkušebního toxinu a jeden z řady stoupajících objemů zkoušeného

séra. Směsi se doplní vhodnou tekutinou na 5,0 ml a nechají se 30 min stát při pokojové teplotě. Pro každou směs se použijí nejméně dvě myši a každé se intravenózně nebo intraperitoneálně vstříkne 0,5 ml; pozorují se 72 h. Neuhyne-li žádná myš, obsahuje 0,5 ml směsi více než 1 m.j. beta-antitoxinu nebo 0,1 m.j. epsilon-antitoxinu. Uhynou-li všechny myši, obsahuje 0,5 ml směsi méně než 1 m.j. beta-antitoxinu nebo 0,1 m.j. epsilon-antitoxinu.

**Konečná zkouška.** Připraví se řada směsí roztoků zkušebního toxinu a zkoušeného séra tak, aby 5,0 ml každé směsi obsahovalo 2,0 ml roztoku zkušebního toxinu a jeden z řady stoupajících objemů zkoušeného séra (v řadě se stoupající objemy mezi sebou liší nejvýše o 20 % a řada přesahuje očekávaný limitní bod stanovený v předběžné zkoušce). Aby se potvrdila zkušební dávka toxinu, připraví se další směsi tak, aby 5,0 ml každé směsi obsahovalo 2,0 ml roztoku zkušebního toxinu a jeden z řady stoupajících objemů roztoku referenčního přípravku. Všechny směsi se nechají 30 min stát při pokojové teplotě a pro každou se použijí nejméně dvě myši, při čemž se dále postupuje tak, jak je popsáno v předběžné zkoušce.

**Beta-antitoxin.** Zkoušená směs, která obsahuje 1 m.j. v 0,5 ml, je ta směs, která usmrtí shodný nebo téměř shodný počet myší jako referenční směs, která obsahuje 1 m.j. v 0,5 ml.

**Epsilon-antitoxin.** Zkoušená směs, která obsahuje 0,1 m.j. v 0,5 ml, je ta směs, která usmrtí shodný nebo téměř shodný počet myší jako referenční směs, která obsahuje 0,1 m.j. v 0,5 ml. Stanovení se nejméně jedenkrát opakuje a vypočítá se průměr všech platných výsledků. Zkouška je platná pouze tehdy, když výsledek referenčního přípravku je v rozmezí  $\pm 20$  % od očekávané hodnoty.

Intervaly spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) jsou stanoveny takto:

- 85 % až 114 %, použila-li se dvě zvířata na dávku,
- 91,5 % až 109 %, použila-li se čtyři zvířata na dávku,
- 93 % až 108 %, použilo-li se šest zvířat na dávku.

## Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

## Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede:

- typ nebo typy *Clostridium perfringens*, ze kterých je vakcína připravena,
- je-li přípravek toxoid nebo vakcína připravená z celé inaktivované kultury, nebo je-li to směs obou,
- že se před použitím přípravků roztřepe,
- vytvořený imunizující účinek pro každý cílový druh (např. tvorba protilátek, ochrana před příznaky nemoci nebo infekcí).

---

# Vaccinum clostridii septicæ ad usum veterinarium

Vakcína proti *Clostridium septicum* pro veterinární použití



2001

Připravuje se z tekuté kultury vhodného kmene *Clostridium septicum*.

## Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Celá kultura nebo její filtrát, nebo směs obou se inaktivuje tak, aby se odstranila toxicita, ale imunogenita zůstala zachována. K toxoidu a/nebo inaktivovaným kulturám se může přidat vhodné adjuvans.

## Výběr složení vakcíny

Vakcína je prokazatelně uspokojivá z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7). Imunogenita vakcíny pro každé cílové zvíře se prokáže, když aplikována podle doporučeného vakcinačního schématu stimuluje imunitní odpověď (např. tvorbu protilátek) shodnou s požadavky na přípravek.



### Zkoušení šarže

**Reziduální toxicita.** Zkoušku na reziduální toxicitu může výrobce vynechat, pokud se zkouška detoxikace provádí bezprostředně po detoxikačním procesu. Je-li riziko návratu toxicity, provede se druhá zkouška v nejzazším možném stupni výrobního procesu (viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*).

**Zkouška účinnosti šarže.** Zkoušku popsanou v odstavci Stanovení účinnosti není nezbytně nutné provádět při rutinním zkoušení šarží vakcíny. Proveďte se jednou nebo vícekrát podle rozhodnutí nebo souhlasu oprávněné autority. Kde se neprovede tato zkouška, použije se vhodná validovaná zkouška. Kritéria pro přijetí se stanoví ve vztahu k šarži, která měla vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti a která je vyhovující z hlediska imunogenity pro cílové druhy zvířat. Může se používat následující zkouška, prokáže-li se její dostatečná shoda se zkouškou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

Vakcinují se králíci, jak je popsáno v odstavci Stanovení účinnosti a připraví se séra. V jednotlivých sérech se stanoví titer protilátek proti alfa-toxinu *Cl. septicum* vhodnou metodou, např. imunochemicky (2.7.1) nebo neutralizací v buněčných kulturách. Použije se homologní referenční sérum kalibrované v mezinárodních jednotkách *Cl. septicum* alfa antitoxinu. Vakcína vyhovuje zkoušce účinnosti, není-li zjištěný titer protilátek nižší než jejich titer v šarži vakcíny, která dala vyhovující výsledek ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti a která byla prokazatelně uspokojivá z hlediska imunogenity pro cílové druhy zvířat.

### Zkouška totožnosti

Vakcína po injekčním podání zvířatům, které nemají antitoxin proti *Cl. Septicum* podporuje tvorbu tohoto antitoxinu.

### Zkoušky na čistotu

**Bezpečnost.** Použijí se dvě zdravá vnímavá zvířata jednoho z druhů, pro které je přípravek určen. Každému zvířeti se doporučeným způsobem vstříkne dvojnásobek nejvyšší dávky uvedené v označení na obalu. Zvířata se pozorují 14 dní. Neprojeví se žádná významná místní ani systémová reakce.

**Zbytková toxicita.** Pěti myším hmotnosti 17 g až 22 g se podkožně vstříkne po 0,5 ml zkoušeného přípravku. Zvířata se pozorují 7 dní. Neprojeví se žádná významná místní ani systémová reakce.

**Sterilita.** Vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

### Stanovení účinnosti

Nejméně deseti zdravým králíkům starým tři až šest měsíců se podkožně vstříkne množství přípravku, které nepřesahuje nejnižší první dávku uvedenou v označení. Za 21 až 28 dní se tato zvířata přeočkují množstvím, které nepřesahuje nejnižší druhou dávku uvedenou v označení. Za 10 až 14 dní po přeočkování se králíkům odebere krev a vytvoří se směsný vzorek sér.

Účinnost směsného vzorku sér je nejméně 2,5 m.j. v mililitru.

Mezinárodní jednotka je specifická účinnost neutralizující toxin *Cl. septicum* obsažená v deklarovaném množství mezinárodního standardu, který obsahuje určité množství sušeného imunního koňského séra. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

Účinnost směsného vzorku sér králíků se stanoví porovnáním dávky potřebné k ochraně myši nebo jiných vhodných zvířat před toxickým účinkem dávky toxinu *Cl. septicum* s dávkou referenčního přípravku antitoxinu *Cl. septicum* kalibrovaného v mezinárodních jednotkách, nezbytnou k vytvoření stejné ochrany. K tomuto porovnání je zapotřebí vhodný přípravek toxinu *Cl. septicum*, který se použije jako zkušební toxin. Dávka zkušebního toxinu se stanoví proti referenčnímu přípravku, účinnost zkoušeného séra se stanoví porovnáním s referenčním přípravkem za použití zkušebního toxinu.

**Příprava zkušebního toxinu.** Zkušební toxin se připraví ze sterilního filtrátu jednodenní až třídenní kultury *Cl. septicum* v tekuté živné půdě a vysuší se vhodnou metodou. Zkušební toxin se vybírá podle stanovení dávky L+/5 a LD<sub>50</sub> pro myši. Doba pozorování je 72 h.

Vhodný toxin obsahuje nejméně jednu dávku L+/5 a 1,0 mg a nejméně 10 LD<sub>50</sub> v každé dávce L+/5.

**Stanovení zkušební dávky toxinu.** Ve vhodné tekutině se připraví roztok referenčního přípravku tak, aby v 1 ml obsahoval 1,0 m.j. Roztok zkušebního toxinu ve vhodné tekutině se připraví tak, aby v 1 ml obsahoval přesně známé množství,

např. 4 mg. Připraví se směsi roztoků referenčního přípravku a zkušební toxinu tak, aby každá směs obsahovala 2,0 ml roztoku referenčního přípravku (2 m.j.) a jeden z řady stoupajících objemů roztoku zkušební toxinu. Směsi se doplní vhodnou tekutinou na 5,0 ml a uchovávají se 60 min při pokojové teplotě. Pro každou směs se použijí nejméně dvě myši hmotnosti 17 g až 22 g a každé se intravenózně nebo intraperitoneálně vstříkne 0,5 ml; pozorují se 72 h. Uhyne-li všechny myši, je množství toxinu, obsažené v 0,5 ml směsi vyšší než zkušební dávka. Neuhyne-li žádná myš, je množství toxinu obsažené v 0,5 ml směsi nižší než zkušební dávka. Potom se připraví čerstvé směsi tak, aby 5,0 ml každé směsi obsahovalo 2,0 ml roztoku referenčního přípravku (2 m.j.) a jeden z řady stoupajících objemů roztoku zkušební toxinu (v řadě se sousedící objemy mezi sebou liší nejvýše o 20 % a řada přesahuje očekávaný limitní bod). Směsi se nechají 60 min stát při pokojové teplotě. Pro každou směs se použijí nejméně dvě myši a každé se intravenózně nebo intraperitoneálně vstříkne 0,5 ml; pozorují se 72 h. Zkouška se nejméně jedenkrát opakuje a výsledky u jednotlivých směsí se sečtou. Tak se získá řada výsledných součtů, z nichž každý představuje úmrtnost způsobenou směsí stejného složení.

Zkušební dávka toxinu je množství obsažené v 0,5 ml té směsi, která způsobí úhyn poloviny celkového počtu myši, jimž se podala.

### **Stanovení účinnosti králíčích sér**

*Předběžná zkouška.* Ve vhodné tekutině se rozpustí takové množství zkušební toxinu, aby 2,0 ml obsahovaly desetinasobek zkušební dávky (roztok zkušební toxinu). Připraví se řada směsí roztoků zkušební toxinu a zkoušeného séra tak, aby každá směs obsahovala 2,0 ml roztoku zkušební toxinu a jeden z řady stoupajících objemů zkoušeného séra. Směsi se doplní vhodnou tekutinou na 5,0 ml a nechají se 60 min stát při pokojové teplotě. Pro každou směs se použijí nejméně 2 myši a každé se intravenózně nebo intraperitoneálně vstříkne 0,5 ml; pozorují se 72 h. Neuhyne-li žádná myš, obsahuje 0,5 ml směsi více než 0,2 m.j. Uhyne-li všechny myši, obsahuje 0,5 ml směsi méně než 0,2 m.j.

*Konečná zkouška.* Připraví se řada směsí roztoků zkušební toxinu a zkoušeného séra tak, aby 5,0 ml každé směsi obsahovalo 2,0 ml roztoku zkušební toxinu a jeden z řady stoupajících objemů zkoušeného séra (v řadě se sousedící objemy mezi sebou liší nejvýše o 20 % a řada přesahuje očekávaný limitní bod stanovený v předběžné zkoušce). Aby se potvrdila zkušební dávka toxinu, připraví se další směsi tak, aby 5,0 ml každé směsi obsahovalo 2,0 ml roztoku zkušební toxinu a jeden z řady stoupajících objemů roztoku referenčního přípravku. Všechny směsi se nechají 60 min stát při pokojové teplotě a pro každou se použijí nejméně dvě myši, přičemž se dále postupuje tak, jak je popsáno v předběžné zkoušce. Zkoušená směs, která obsahuje 0,2 m.j. v 0,5 ml, je ta směs, která usmrtí shodný nebo téměř shodný počet myši jako referenční směs, která obsahuje 0,2 m.j. v 0,5 ml. Stanovení se nejméně jedenkrát opakuje a vypočítá se průměr všech platných výsledků. Zkouška jsou platná pouze tehdy, když výsledek referenčního přípravku je v rozmezí  $\pm 20\%$  od očekávané hodnoty.

Intervaly spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) jsou stanoveny takto:

- 85 % až 114 %, použila-li se dvě zvířata na dávku,
- 91,5 % až 109 %, použila-li se čtyři zvířata na dávku,
- 93 % až 108 %, použilo-li se šest zvířat na dávku.

### **Uchovávání**

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

### **Označování**

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede:

- je-li přípravek toxoid, nebo vakcína připravená z celé inaktivované kultury, nebo je-li to směs obou,
- že se před použitím přípravku roztřepe,
- vytvořený imunizující účinek pro každý cílový druh (např. tvorba protilátek, ochrana před příznaky nemoci nebo infekcí).

224. 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



Je to suspenze jednoho nebo více vhodných kmenů *Erysipelothrix rhusiopathiae* (*E. insidiosus*) inaktivovaných vhodnou metodou. Tento článek se vztahuje na vakcíny určené k aktivní imunizaci prasat.

### **Výroba**

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Vakcína může obsahovat adjuvans.

### **Výběr složení vakcíny**

Vakcína je prokazatelně uspokojivá z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7).

*Imunogenita*. Zkouška popsaná v odstavci Zkouška účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity vakcíny, pokud se týká k sérotypu 1 a sérotypu 2 *E. rhusiopathiae*. Jsou-li učiněny požadavky na jiný sérotyp, pak je nutná další zkouška k průkazu imunogenity proti tomuto sérotypu.

### **Zkoušení šarže**

*Zkouška účinnosti šarže*. Zkouška popsaná v odstavci Zkouška účinnosti se při běžném zkoušení šarží vakcíny neprovádí. Proveďte se u dané vakcíny jednou nebo vícekrát podle rozhodnutí nebo se souhlasem oprávněné autority. Kde se tato zkouška neprovádí, provádí se vhodná validovaná alternativní zkouška, jejíž kritéria pro přijetí se stanovila ve vztahu k šarži vakcíny, která měla vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Zkouška účinnosti. Následující zkouška se může použít, pokud byl prokázán uspokojivý vztah se zkouškou popsanou v odstavci Zkouška účinnosti.

Použijí se myši o hmotnosti 17 g až 20 g stejného původu a bez protilátek proti *E. rhusiopathiae*. Zkoušená vakcína a referenční přípravek se přidělí jednotlivým odděleným skupinám po deseti myších a vstříkne se subkutánně každé myši vhodná dávka (obvykle v rozsahu 1/25 až 1/100 dávky pro prase) přípravku přiděleného určité skupině. Jako kontrola čelenžní suspenze se použije skupina deseti myší

K čelenži se použije dostatečné množství virulentní kultury *E. rhusiopathiae* v aktivní růstové fázi nebo z ní připravené ředění, postačující k usmrcení myši během dvou až pěti dnů. Za 21 dní po vakcinaci se každé myši ve všech třech skupinách intraperitoneálně vstříkne 0,3 ml čelenžní suspenze. Myši se sledují 8 dnů a zaznamenává se počet úhynů. Zvířata mající těžké příznaky onemocnění se mohou humánně utratit a považují se pak za uhynulá po čelenži.

Zkouška je neplatná, jestliže jedna nebo více kontrolních myší přežije více než 5 dnů po čelenži nebo jestliže počet myší, které byly vakcinovány referenčním přípravkem a přežily čelenž, není v přijatelném rozmezí definovaném pro tento referenční přípravek.

Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže počet myší, které byly vakcinovány zkoušenou šarží a přežily čelenž, je rovný nebo vyšší než odpovídající počet myší vakcinovaných šarží vakcíny, která měla vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Zkouška účinnosti.

### **Zkouška totožnosti**

Injekční podání přípravku zvířatům, která nemají protilátky proti *E. rhusiopathiae*, vyvolá tvorbu těchto protilátek.

## Zkoušky na čistotu

**Bezpečnost.** Dvěma prasatům nejnižšího stáří doporučeného k vakcinaci a bez protilátek proti *E. rhusiopathiae* se doporučeným způsobem vstříkne dvojnásobná vakcinační dávka. Zvířata se sledují 14 dnů. Neprojeví se žádná významná místní ani systémová reakce.

**Sterilita.** Vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

## Stanovení účinnosti

Použije se nejméně patnáct prasat alespoň 12 týdnů starých o hmotnosti nejméně 20 kg a bez protilátek proti *E. rhusiopathiae*. Zvířata se rozdělí do dvou skupin. Skupina o počtu nejméně deseti prasat se vakcinuje podle doporučeného schématu. Druhá skupina o počtu nejméně pěti prasat se udržuje jako nevakcinovaná kontrola. Tři týdny po vakcinaci se zvířata vakcinované i kontrolní skupiny čelují intradermální injekcí virulentních kmenů sérotypu 1 a sérotypu 2 *E. rhusiopathiae*, odděleně po 0,1 ml každého sérotypu. Zvířata se sledují 7 dnů. Vakcína vyhovuje zkoušce, pokud alespoň 90 % vakcinovaných zvířat zůstane bez příznaků onemocnění. Zkouška je neplatná, pokud má méně než 90 % kontrolních zvířat typické příznaky onemocnění, tj. kožní změny tvaru kosočtverce v místě vpichu. Pokud má zvíře typické příznaky onemocnění, předejde se jeho zbytečnému utrpení buď humánním utracením, nebo poskytnutím vhodné léčby.

## Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

## Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označení na obalu se uvedou sérotypy *E. rhusiopathiae* obsažené ve vakcíně.

“

225. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek *Vaccinum febris typhoidis polysaccharidicum* zní:

”

---

## Vaccinum febris typhoidis polysaccharidicum

Polysaccharidová vakcína proti tyfu



2001

Je to přípravek z purifikovaného Vi kapsulárního polysaccharidu *Salmonella typhi* kmene Ty2 nebo jiného vhodného kmene, který má schopnost vytvářet Vi polysaccharid.

Kapsulární Vi polysaccharid sestává z částečně 3-O-acetylovaných opakujících se jednotek 2-aceamido-2-deoxy-D-galaktopyranuronové kyseliny s  $\alpha$ -(1→4) vazbami.

## Výroba

Výroba Vi polysaccharidu je založena na systému jednotné inokulace. Výrobní postup prokazatelně poskytuje stejnorodé tyfové polysaccharidové vakcíny přiměřené svojí imunogenitou a bezpečností pro člověka.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že přípravek, bude-li zkoušen, vyhoví ve zkoušce na neškodnost pro imunní séra a vakcíny pro humánní použití (2.6.9).

### **Bakteriální inokula**

Kmen *S. typhi* použitý jako matečné inokulum je určen podle průvodních záznamů, které zahrnují informace o jeho původu a biochemické a sérologické charakteristiky. Kultury pracovního inokula vykazují tytéž charakteristiky jako kmen, který byl použit k přípravě matečného inokula.

Pouze kmen, který má následující charakteristiky, se může použít pro přípravu vakcíny: a) barvené nátěry z kultury jsou typické pro enterobakterie; b) kultury zužitkovávají glukosu bez tvorby plynu; c) kolonie na agaru jsou oxidasa-negativní; d) suspenze z kultur se specificky aglutinují s vhodným Vi antisérem nebo kolonie na agarové plotně obsahující vhodné Vi antisérum tvoří prstence.

### **Kultivace a sklizeň**

Pracovní inokulum se kultivuje na pevné půdě, která může obsahovat substance krevních skupin, nebo v tekuté půdě; získané inokulum se přenese do tekuté živné půdy, která se použije k naočkování konečné živné půdy.

Použitá tekutá půda a konečná živná půda jsou semisyntetické, prosté látek, které se srážejí cetrimoniumbromidem a neobsahují krevní skupinové substance ani vysokomolekulární polysacharidy, pokud není prokázáno jejich odstranění purifikačním procesem.

Bakteriální čistota kultury se ověří mikroskopickým vyšetřením nátěru obarveného podle Grama a vyočkováním na vhodné živné půdy; několik polí se pozoruje při velkém zvětšení tak, aby se vyšetřilo nejméně 10 000 organismů. Kultura se pak na začátku stacionární fáze inaktivuje přidáním formaldehydu. Bakteriální buňky se odstraní odstředěním; polysacharid se z média precipituje přidáním hexadecyltrimethylamoniumbromidu (cetrimoniumbromid). Precipitát se sklídí a může se před purifikací uchovávat při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### **Purifikovaný Vi polysacharid**

Po rozštěpení polysacharid/cetrimoniumbromidového komplexu se polysacharid purifikuje za použití vhodných postupů k odstranění zbylých nukleových kyselin, bílkovin a lipopolysacharidů. Polysacharidy se srážejí jako vápenatá sůl v přítomnosti ethanolu a suší se při  $2\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; získaný prášek tvoří Vi polysacharid. Ztráta sušením se stanoví termogravimetricky (2.2.34) a získaná hodnota se použije k přepočtu výsledků dále uvedených chemických zkoušek na vysušenou látku.

Pouze purifikovaný Vi polysacharid, který vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít pro přípravu konečné várky vakcíny.

**Bílkovina** (2.5.16). Nejvýše 10 mg v 1 g polysacharidu, počítáno na vysušenou látku.

**Nukleové kyseliny** (2.5.17). Nejvýše 20 mg v 1 g polysacharidu, počítáno na vysušenou látku.

**O-Acetyl skupiny** (2.5.19). Nejméně 2 mmol v 1 g polysacharidu, počítáno na vysušenou látku.

**Molekulová velikost.** Proveďte se vylučovací chromatografie (2.2.30) s použitím *agarosy síťované pro chromatografii R*. Použijte se kolona délky 0,9 m a vnitřního průměru 16 mm, jejíž rovnováha byla ustavena rozpouštědlem s iontovou silou 0,2 mol/kg a hodnotou pH 7,0 až 7,5. Na kolonu se nanese asi 5 mg polysacharidu v objemu 1 ml a eluuje se asi 20 ml/h. Odebírají se frakce asi po 2,5 ml. Stanoví se bod odpovídající  $K_0 = 0,25$  a udělají se dvě směsi sestávající z frakcí eluovaných před a po tomto bodě. Stanoví se O-acetyl skupiny v těchto dvou směsích (2.5.19). Ve směsi obsahující frakce eluované před bodem  $K_0 = 0,25$  je nalezeno nejméně 50 % polysacharidu.

**Zkouška totožnosti.** Proveďte se zkouška totožnosti za použití vhodné imunochemické metody (2.7.1).

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14, *Metoda D*). Nejvýše 150 m.j. endotoxinu v mikrogramu polysacharidu.

### **Konečná várka vakcíny**

Jedna nebo více šarží purifikovaného Vi polysacharidu se rozpustí ve vhodném rozpouštědle, které může obsahovat protimikrobní konzervační látku tak, aby objem odpovídající jedné dávce obsahoval 25 mg polysacharidu a roztok byl izotonický s krví (od 250 mosmol/kg do 350 mosmol/kg).

Pouze konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícím zkouškám, se může použít pro výrobu šarže.

**Sterilita (2.6.1).** Konečná várka vakcíny vyhovuje ve zkoušce na sterilitu, na každou půdu se použije 10 ml.

**Protimikrobní konzervační látky.** Kde je to vhodné, stanoví se obsah protimikrobní konzervační látky vhodnou fyzikálně-chemickou metodou. Obsah je v rozmezí 85 % až 115 % zamýšleného množství.

### Šarže

Konečná várka vakcíny se asepticky rozplní do sterilních zabezpečených obalů, které se potom uzavřou tak, aby se předešlo kontaminaci.

Pouze šarže, která vyhovuje všem požadavkům předepsaným v odstavcích Zkouška totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení obsahu může být uvolněna k použití. Pokud byly zkoušky na volný formaldehyd a protimikrobní konzervační látky provedeny v konečné várce vakcíny, mohou se u šarže vypustit.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina, prostá viditelných částic.

### Zkouška totožnosti

Provede se zkouška totožnosti použitím vhodné imunochemické metody (2.7.1).

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH (2.2.3).** pH vakcíny je 6,5 až 7,5.

**O-Acetyl skupiny.** 0,085  $\mu\text{mol}$  ( $\pm 25\%$ ) v dávce (25  $\mu\text{g}$  polysacharidu).

**Zkoušený roztok.** Do každé ze tří zkumavek se převede po 3 ml vakcíny (dva reakční roztoky a jeden korekční roztok).

**Porovnávací roztoky.** 0,150 g *acetylcholiniumchloridu R* se rozpustí v 10 ml *vody R* (základní roztok obsahující 15 g/l *acetylcholiniumchloridu*). Bezprostředně před použitím se 0,5 ml základního roztoku zředí *vodou R* na 50 ml (pracovní ředění obsahující 150  $\mu\text{g/ml}$  *acetylcholiniumchloridu*). Do deseti zkumavek ve dvojicích (reakční a korekční roztok) se rozplní 0,1 ml, 0,2 ml, 0,5 ml, 1,0 ml a 1,5 ml pracovního ředění.

Kontrolní roztok se připraví ze 3 ml *vody R*.

Objem v každé zkumavce se doplní *vodou R* na 3 ml. Přidá se 0,5 ml směsi objemových dílů *vody R* a *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS (1 + 2)* do každé korekční zkumavky a ke kontrolnímu roztoku. Do každé zkumavky se přidá 1,0 ml *hydroxylamoniumchloridu alkalickeho RS*. Reakce se nechá probíhat přesně 2 min a do každé z reakčních zkumavek se přidá 0,5 ml směsi objemových dílů *vody R* a *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS (1 + 2)*. Do každé zkumavky se přidá 0,5 ml roztoku *chloridu železitého R (200 g/l)* v *kyselině chlorovodíkové 0,2 mol/l RS*, zkumavky se zazátkují a silně se protřepou k odstranění bublin.

Měří se absorbance (2.2.25) každého roztoku při 540 nm proti kontrolnímu roztoku. Pro každý reakční roztok se odečte absorbance příslušného korekčního roztoku. Sestrojí se kalibrační křivka z korigovaných absorbancí pěti porovnávacích roztoků a odpovídajících obsahů *acetylcholiniumchloridu*. Z křivky se odečte obsah *acetylcholiniumchloridu* ve zkoušených roztocích pro každý zkoušený objem. Vypočítá se průměr ze dvou hodnot.

1 mol *acetylcholiniumchloridu* (181,7 g) odpovídá 1 mol O-acetylu (43,05 g).

**Volný formaldehyd.** Vyhovuje zkoušce na volný formaldehyd předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

**Protimikrobní konzervační látky.** Kde je to vhodné, stanoví se obsah protimikrobních konzervačních látek vhodnou fyzikálně-chemickou metodou. Obsah není nižší než nejnižší prokazatelně účinné množství a není vyšší než 115 % množství uvedeného v označení na obalu. Pokud byl při přípravě použit fenol, nepřesahuje jeho množství 2,5 g/l (2.5.15).

**Sterilita (2.6.1).** Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14, Metoda D).** Nejvýše 3750 m.j. endotoxinu v jednotlivé lidské dávce.

### Stanovení obsahu

Vi polysacharid se stanoví vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) s použitím referenčního purifikovaného polysacharidu. Stanovené množství polysacharidu v dávce je 80 % až 120 % deklarovaného množství. Interval spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) stanoveného obsahu je v rozmezí 80 % až 120 %.

## Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

## Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- počet mikrogramů polysacharidu v lidské dávce (25 µg),
- celkové množství polysacharidu v obalu.

“

226. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Vaccinum febris typhoidis vivum perorale* doplňuje článek *Vaccinum furunculosis ad salmonideos inactivatum cum adiuvatione oleosa ad iniectionem*, který zní:

”

---

## **Vaccinum furunculosis ad salmonideos inactivatum cum adiuvatione oleosa ad iniectionem**



2001

Inaktivovaná vakcína proti furunkulóze lososovitých ryb (injekční)  
s olejovým adjuvans

---

Je to přípravek z kultur jednoho nebo více vhodných kmenů *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*.

### Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Kmeny *A. salmonicida* se kultivují a sklízí odděleně. Získané sklizně se inaktivují vhodnou metodou. Mohou se purifikovat a koncentrovat. Mohou se použít neporušené nebo dezintegrované buňky a vakcína může obsahovat extracelulární produkty bakterií uvolněné do živné půdy. Vakcína obsahuje olejové adjuvans.

### Výběr složení vakcíny

Ve vakcíně jsou zařazeny kmeny prokazatelně vhodné z hlediska schopnosti tvorby imunologicky významných antigenů. Vakcína je prokazatelně uspokojivá z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7) pro ty druhy ryb, pro které je určena.

Při průkazu bezpečnosti a imunogenity vakcíny se mohou použít následující zkoušky:

### Bezpečnost

A. V průběhu vývoje vakcíny se bezpečnost zkouší na třech různých šaržích vakcíny. Zkouška se provádí na každém druhu ryb, pro který je vakcína určena. Ryby použité ve zkoušce pocházejí z populace bez specifických protilátek proti *A. salmonicida* subsp. *Salmonicida* a nebyly vakcinovány proti furunkulóze, ani nebyly vystaveny této infekci. Zkouška probíhá v podmínkách doporučených pro použití vakcíny při teplotě vody nejméně 10 °C. Vakcína

v objemu odpovídajícím dvojnásobku dávky doporučené na jednotku hmotnosti se intraperitoneálně vstříkne nejméně padesáti rybám o nejmenší hmotnosti doporučené pro vakcinaci. Ryby se pozorují 21 dní. Nezjistí se žádné abnormální místní nebo systémové reakce. Zkouška je neplatná, uhynie-li více než 6 % ryb z příčin, které nelze přisoudit vakcíně.

**B. Bezpečnost** se dokazuje také v terénních podmínkách aplikací doporučené dávky dostatečnému počtu ryb nejméně ve dvou provezech. Ve třech obdobích (po vakcinaci, v polovině chovného období a při konečném výlovu) se odeberají vzorky od třiceti ryb a vyšetří se na přítomnost místních změn v tělní dutině.

Jsou přípustné pouze mírné léze včetně lokalizovaných srůstů mezi vnitřnostmi nebo mezi vnitřnostmi a stěnou břišní a rovněž slabé zakalení nebo ojedinělé pigmentace na peritoneu. Naopak nepřijatelné jsou rozsáhlé léze, včetně srůstů větších částí břišních orgánů, masivní pigmentace nebo nápadné zesílení a zakalení větších ploch peritonea, jestliže se vyskytly u více než 10 % ryb z některého vzorku. Takové změny, včetně srůstů, mění vzhled orgánů nebo způsobí perforace peritonea s následným vyřeznutím orgánů.

*Imunogenita.* Zkouška popsáná v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity vakcíny.

### Zkoušení šarže

*Zkouška účinnosti šarže.* Pro rutinní zkoušení šarží vakcíny se může provést zkouška popsáná v odstavci Stanovení účinnosti za použití skupiny nejméně třiceti ryb. Alternativně se může použít vhodná validovaná metoda založená na protilátkové odpovědi, kritéria se stanoví s ohledem na šarži vakcíny, která prokázala vyhovující výsledky ve zkoušce popsáné v odstavci Stanovení účinnosti. Následující zkouška se může použít po průkazu uspokojivé korelace se zkouškou popsánou v odstavci Stanovení účinnosti.

Použijí se ryby z populace, která nemá specifické protilátky proti *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* a hmotnost ryb splňuje stanovené limity. Zkouška se provádí při stanovené teplotě.

Nejméně dvaceti pěti rybám se intraperitoneálně vstříkne vakcína podle návodu pro použití. Nejméně deseti rybám v kontrolní skupině se vstříkne placebo. Ve stanoveném období po vakcinaci se odeberou vzorky krve. V každém vzorku se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) stanoví titr specifických protilátek proti *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*. Vakcína vyhovuje, není-li průměrný titr protilátek významně nižší než titr zjištěný u šarže vakcíny, která vyhověla ve zkoušce popsáné v odstavci Stanovení účinnosti. Zkouška je neplatná, jsou-li v kontrolní skupině prokázány protilátky proti *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*.

### Zkouška totožnosti

Vakcína podporuje tvorbu specifických protilátek proti *A. salmonicida* po aplikaci rybám, které neměly tyto protilátky.

### Zkoušky na čistotu

**Bezpečnost.** Použije se nejméně deset ryb jednoho z druhů, pro které je vakcína určena. Použité ryby by měly mít nejmenší tělesnou hmotnost podle pokynů k vakcinaci. Nejsou-li ryby o této hmotnosti k dispozici, použijí se ryby o hmotnosti nejvýše dvojnásobné. Lze použít jen ryby z populace bez specifických protilátek proti *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, které nebyly vakcinovány proti furunkulóze ani nebyly vystaveny této infekci. Zkouška se provede v podmínkách doporučených pro použití vakcíny při teplotě vody nejméně 10 °C.

Vakcína se všem rybám vstříkne intraperitoneálně v objemu odpovídajícím dvojnásobku doporučené dávky na jednotku hmotnosti. Ryby se pozorují 21 dní. Nezjistí se žádné abnormální místní nebo systémové reakce. Zkouška je neplatná, uhynie-li více než 10 % ryb z příčin, které nelze přisoudit vakcíně.

**Sterilita.** Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

### Stanovení účinnosti

Zkouška se provádí podle protokolu definujícího limity hmotnosti ryb, zdroje, průtok a teplotu vody a přípravu standardní čelenže.

Vakcinuje se nejméně sto ryb doporučenou metodou podle návodu k použití. Nejméně stu ryb v kontrolní skupině se vstříkne placebo. Vakcinované i kontrolní ryby se pro identifikaci označí. Všechny ryby se drží v jedné nádrži, případně



se do více nádrží nasadí stejný počet vakcinovaných a kontrolních ryb. Ve stanoveném časovém intervalu po vakcinaci definovaném podle údajů s ohledem na vývoj imunity se ryby injekčně čelenžují. Pro čelenž se použije kultura *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, jejíž virulence byla ověřena. Ryby se pozorují denně, dokud není dosaženo nejméně 60 % specifických úhynů v kontrolní skupině. Pro obě skupiny – vakcinovanou i kontrolní – se sestrojí křivka specifické mortality v závislosti na době po čelenži. Interpolací se stanoví doba odpovídající 60% specifické mortalitě kontrol.

Zkouška je neplatná, je-li v kontrolní skupině do 21 dnů po prvním úhynu ryb zjištěna specifická mortalita nižší než 60 %. Z křivky pro vakcinované ryby se zjistí mortalita ( $M$ ) v době odpovídající 60% mortalitě kontrol.

Vypočte se relativní procento přežití (RPP) ze vzorce:

$$\left(1 - \frac{M}{60}\right) \cdot 100.$$

Vakcína vyhovuje, jestliže hodnota RPP je nejméně 80 %.

### Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

### Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede informace o době potřebné k vývoji imunity po vakcinaci při dodržení podmínek odpovídajících doporučenému použití.

“

227. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek *Vaccinum haemophili stirpe b conjugatum* zní:

”

## **Vaccinum haemophili stirpe b conjugatum<sup>1)</sup>**

Konjugovaná vakcína proti hemofilu typu b



Je to tekutý nebo lyofilizovaný přípravek obsahující polysacharid získaný z vhodného kmene *Haemophilus influenzae* typ b, kovalentně vázaný na bílkovinný nosič. Polysacharid polyribosylribitolfosfat, označovaný jako PRP, je lineární kopolymer složený z opakujících se jednotek 3-β-D-ribofuranosyl-(1→1)-ribitol-5-fosfatu [(C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>O<sub>12</sub>P)<sub>n</sub>] s definovanou molekulovou hmotností. Bílkovinný nosič, je-li konjugován s PRP, je schopen navodit na T-buňkách závislou B-buněčnou imunitní odpověď na tento polysacharid.

Vakcína vyhovuje článku *Vaccina ad usum humanum*.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 3, 422 (2000). Závazné od 1. 9. 2000.

## Výroba

### Všeobecná ustanovení

Výrobní proces má prokazatelně poskytovat stále stejné vakcíny, které jsou u lidí dostatečně imunogenní a neškodné. Výroba PRP a nosiče je založena na systému jednotné inokulace.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že pokud bude výrobek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9).

Během vývojových studií a kdykoli je nezbytná revalidace výrobního procesu, prokazuje se zkouškami na zvířatech, že vakcína pravidelně indukuje na T-buňkách závislou B-buněčnou imunitní odpověď.

Stabilita šarže a odpovídajících meziproduktů se hodnotí jednou nebo více vybranými zkouškami. Tyto zkoušky mohou zahrnovat stanovení velikosti molekul, stanovení volného PRP v konjugátu a stanovení imunogenity u myší. Na základě výsledků stabilitních zkoušek se vytyčí pro tyto zkoušky požadavky na propuštění, aby se zajistilo, že vakcína bude na konci doby platnosti ještě uspokojivá.

### Bakteriální inokula

Barvením podle Grama a inokulací na vhodné půdy se prokáže, že matečné inokulum *H. influenzae* typu b neobsahuje kontaminující látky. Několik zorných polí se při velkém zvětšení vyšetří tak, aby bylo prohlédnuto nejméně 10 000 mikroorganismů.

V tekutinách použitých pro udržení životnosti kmene se nepoužijí složité produkty živočišného původu, a to ani pro lyofilizaci nebo pro zmrazování.

Doporučuje se PRP připravený jednotnou inokulací charakterizovat použitím nukleární magnetické rezonanční spektrometrie (2.2.33).

### Polysacharid *H. influenzae* typu b (PRP)

*H. influenzae* typu b se pomnoží v tekuté půdě, která neobsahuje vysokomolekulární polysacharidy; jestliže některá složka půdy obsahuje krevní substance, postup se validuje, aby se dokázalo, že po purifikačních krocích nejsou tyto substance dále detegovatelné. Bakteriální čistota kultury se prokazuje vhodnými metodami. Kultura může být inaktivovaná. PRP je separován z tekuté kultury a purifikován vhodnou metodou. Těkávé látky, včetně vody, se v purifikovaném polysacharidu stanoví vhodnou metodou, jako je termogravimetrie (2.2.34); výsledek se použije k přepočtu výsledků jiných zkoušek na vysušenou látku, jak je popsáno dále.

Pouze PRP, který vyhoví následujícím požadavkům, se může použít pro přípravu konjugátu.

**Totožnost.** PRP se dokáže imunochemickou metodou (2.7.1) nebo jinou vhodnou metodou, např.<sup>1</sup>H nukleární magnetickou rezonanční spektrometrií (2.2.33).

**Distribuce molekulové velikosti.** Procento PRP vymývané před danou hodnotou  $K_0$  nebo v rozsahu hodnot  $K_0$  se stanoví vylučovací chromatografií (2.2.30). Přijatelná hodnota je stanovena pro jednotlivé přípravky a každá šarže PRP prokazatelně vyhovuje této hodnotě. Pro informaci jsou v tabulce 1 uvedeny limity pro schvalované výrobky za použití uvedených stacionárních fází. Kde je to vhodné, stanoví se také distribuce velikosti molekul po chemické modifikaci polysacharidu.

Pro stanovení distribuce molekulové velikosti se může použít také kapalinová chromatografie (2.2.29) s detektorem na bázi víceúhlového rozptylu světla.

Validované stanovení stupně polymerizace nebo váženého průměru hmotnosti molekul a disperze molekulových hmotností se mohou použít místo stanovení distribuce molekulové velikosti.

**Ribosa** (2.5.31). Nejméně 32 %; počítáno na vysušenou látku.

**Fosfor** (2.5.18). 6,8 % až 9,0 %; počítáno na vysušenou látku.

**Bílkoviny** (2.5.16). Nejvýše 1,0 %; počítáno na vysušenou látku. K detekci bílkovin v koncentraci 1% nebo vyšší se použije dostatečné množství PRP.

**Nukleová kyselina** (2.5.17). Nejvýše 1,0 %, počítáno na vysušenou látku.

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14). Nejvýše 25 m.j. endotoxinu v mikrogramu PRP.

**Zbytkové látky.** Kde je to vhodné, provádějí se zkoušky na stanovení zbytkových látek použitých při inaktivaci a purifikaci. Přijatelná hodnota pro každou látku je stanovena pro jednotlivý přípravek a každá šarže PRP prokazatelně vyhovuje limitu. Jestliže validační studie prokázaly odstranění zbytkových látek, zkouška u PRP se může vypustit.

### **Bílkovinný nosič**

Bílkovinný nosič je vybrán tak, aby po konjugaci s PRP byl schopen indukovat na T-buňkách závislou B-buněčnou imunitní odpověď. Povolené nosiče a konjugační metody jsou uvedeny v tabulce 1. Bílkovinný nosič je produkován v kultuře vhodných mikroorganismů, ověřené na bakteriální čistotu. Kultura může být inaktivovaná; bílkovinný nosič je purifikován vhodnou metodou.

Pouze bílkovinný nosič, který vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít k výrobě konjugátu.

**Totožnost.** Zkouška totožnosti se provede vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

**Tab. 1** Charakteristiky přípravku a specifikace pro PRP a bílkovinný nosič u běžně schválených přípravků

Nosič			Hemofilový polysacharid		Konjugace	
Typ	Čistota	Množství na dávku	Typ PRP	Množství na dávku	Metoda spojování	Postup
difterický toxoid	> 1500 Lf na mg dusíku	18 µg	PRP redukována velikost $K_0$ : 0,6 – 0,7; použije se <i>agarosa síťovaná pro chromatografii R</i>	25 µg	aktivace PRP bromkyanem	aktivovaný difterický toxoid (D-AH <sup>+</sup> ), bromkyanem aktivovaný PRP
tetanický toxoid	> 1500 Lf na mg dusíku	20 µg	PRP $\geq 50 \% \leq K_0$ : 0,30; použije se <i>agarosa síťovaná pro chromatografii R</i>	10 µg	zprostředkovaně karbodiimidem	ADH-aktivovaný PRP (PRP-cov.-AH) + tetanický toxoid + EDAC
CRM 197 difterická bílkovina	> 90 % difterické bílkoviny	25 µg	PRP redukována velikost $D_p = 15 - 35$ nebo $10 - 35$	10 µg	reduktivní aminace (jednostupňová metoda) nebo N-hydroxysukcinimidová aktivace	přímé navázání PRP na CRM 197 (aktivované kyanotrihydroboratem)
komplex bílkovin vnější membrány meningokoka skupiny B (OMP)	bílkoviny vnější membrány $\leq 8 \%$ lipopolysacharidu	125 µg nebo 250 µg	PRP redukována velikost $K_0 < 0,6$ ; použije se <i>agarosa síťovaná pro chromatografii R</i> nebo $M_w > 50 \cdot 10^3$	7,5 µg nebo 15 µg	thioetherová vazba	PRP aktivovaný CDi PRP – IM + BuA2 + BrAc = PRP – BuA2 – BrAc + thioaktivovaný OMP

### *Vysvětlivky*

ADH - dihydrazid kyseliny adipové

$D_p$  - stupeň polymerace

BrAc - bromacetylchlorid

EDAC - 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid

BuA2 - butan-1,4-diamid

IM - imidazolium

CDI - karbonyldiimidazol

$M_w$  - vážený průměr molekulové hmotnosti

**Sterilita** (2.6.1). Na každou půdu se inokuluje 10 ml nebo ekvivalent 100 dávek, podle toho, co je méně.

**Difterický toxoid.** Difterický toxoid se vyrábí tak, jak je popsáno v článku *Vaccinum diphtheriae adsorbatum* a vyhovuje požadavkům předepsaným pro várku purifikovaného toxoidu.

**Tetanický toxoid.** Tetanický toxoid se vyrábí tak, jak je popsáno v článku *Vaccinum tetanicum adsorbatum* a vyhovuje požadavkům předepsaným pro várku purifikovaného toxoidu, vyjma antigenní čistoty; nejméně 1500 Lf na miligram bílkovinného dusíku.

**Difterická bílkovina CRM 197.** Obsahuje nejméně 90 % difterické CRM 197 bílkoviny, stanovené vhodnou metodou. Provádějí se vhodné zkoušky buď pro validaci, nebo běžně, aby se prokázalo, že přípravek není toxický.

**OMP (komplex bílkovin vnější membrány meningokoka skupiny B).** OMP vyhovuje následujícím požadavkům pro lipopolysacharidy a pyrogenní látky.

**Lipopolysacharidy.** Nejvýše 8 % lipopolysacharidů, stanoveno vhodnou metodou.

**Pyrogenní látky (2.6.8).** Na 1 kg hmotnosti králíka se vstříkne nitrožilně 0,25 µg OMP.

### Várka konjugátu

PRP je chemicky modifikován k umožnění konjugace: obvykle je částečně depolymerován před nebo během tohoto procesu. Před konjugací mohou být do bílkovinného nosiče nebo PRP zavedeny reaktivní funkční skupiny nebo vazebné můstky (spacers). Konjugát se získá kovalentní vazbou PRP a bílkovinného nosiče. Kde je to vhodné, nezreagované funkční skupiny se schopností potenciálně reagovat se blokují vhodnými krycími činidly; konjugát se čistí, aby se tyto látky odstranily.

Pouze várka konjugátu, která vyhovuje následujícím předpisům, se může použít k přípravě konečné várky vakcíny. Pro každou zkoušku a každý jednotlivý přípravek jsou stanoveny limity přijatelnosti a každá šarže konjugátu prokazatelně vyhoví těmto limitům. Limity těchto zkoušek, vztahující se na běžně schválené přípravky, jsou uvedeny v tabulce 2. Pro lyofilizovanou vakcínu mohou být některé z zkoušek provedeny spíše v šarži než ve várce konjugátu, neboť lyofilizační postup může ovlivnit zkoušenou složku.

**PRP.** Obsah PRP se určí ze stanovení fosforu (2.5.18) nebo ze stanovení ribosy (2.5.31) nebo některou imunochemickou metodou (2.7.1).

**Bílkoviny.** Obsah bílkovin se stanoví vhodnou imunochemickou metodou (např. 2.5.16).

**Poměr PRP k bílkovinám.** Poměr se stanoví výpočtem.

**Distribuce velikosti molekul.** Distribuce velikosti molekul se stanoví vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Volný PRP.** Nenavázaný PRP se stanoví po odstranění z konjugátu, např. iontovou vylučovací chromatografií, vylučovací chromatografií nebo hydrofobní chromatografií, ultrafiltrací nebo jinou validovanou metodou.

**Volný bílkovinný nosič.** Stanoví se vhodnou metodou buď přímo, nebo odvozením obsahu výpočtem z výsledků ostatních zkoušek. Množství je v rozmezí schváleném pro jednotlivý přípravek.

**Nezreagované funkční skupiny.** Žádné nezreagované funkční skupiny nelze ve várce konjugátu detegovat, jestliže postup validace neprokázal, že nezreagované funkční skupiny detegovatelné v tomto stadiu se odstraní při následujících výrobních krocích (např. vzhledem ke krátkému poločasu).

**Zbytkové látky.** Odstranění zbytků látek, jako jsou kyanid, EDAC a fenol, se prokáží vhodnými zkouškami nebo validací výrobního postupu.

**Sterilita (2.6.1).** Proveďte se zkouška, při níž se na každou půdu použije 10 ml nebo ekvivalent 100 dávek, podle toho co je méně.

**Tabulka 2** Požadavky na várku konjugátu pro běžně schválené přípravky

Zkouška	Bílkovinný nosič			
	Difterický toxoid	Tetanický toxoid	CRM 197	OMP
volný PRP	< 37 %	< 20 %	< 25 %	< 15 %
volná bílkovina	< 4 %	< 1 %, je-li prováděno	< 1 % nebo < 2 %, záleží na použité metodě spojení	neprovádí se
poměr PRP k bílkovinám:	1,25 – 1,8	0,30 – 0,55	0,3 – 0,7	0,05 – 0,1
molekulová velikost ( $K_0$ )				
agarosa síťovaná pro chromatografii R	95 % < 0,75	60 % < 0,2	50 % 0,3 – 0,6	85 % < 0,3
agarosa síťovaná pro chromatografii R1	0,6 – 0,7	85 % < 0,5		

### **Konečná várka vakcíny**

K várce konjugátu se před ředěním na konečnou koncentraci vhodným rozpouštědlem může přidat adjuvans, protimikrobní konzervační látka a stabilizátor.

Pouze konečná várka, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít pro přípravu šarže.

**Protimikrobní konzervační látka.** Je-li to vhodné, stanoví se množství protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah je v rozmezí 85 % až 115 % zamýšleného množství.

**Sterilita (2.6.1).** Vyhovuje zkoušce na sterilitu, při níž se na každou půdu použije 10 ml.

### **Šarže**

Pouze šarže, která vyhovuje každému z dále uvedených požadavků na Totožnost, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti může být uvolněna pro použití.

Pokud byla zkouška na protimikrobní konzervační látky provedena u konečné várky vakcíny, může se tato zkouška v šarži vynechat.

**Hodnota pH (2.2.3).** pH vakcíny, je-li třeba rekonstituované, je v rozmezí schváleném pro jednotlivý přípravek.

**Volný PRP.** Nenavázaný PRP se stanoví po odstranění z konjugátu, např. iontovou vylučovací chromatografií nebo hydrofobní chromatografií, ultrafiltrací nebo jinou validovanou metodou. Množství volného PRP není větší než množství schválené pro jednotlivý přípravek.

### **Zkouška totožnosti**

Totožnost vakcíny se prokáže vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) pro PRP.

### **Zkoušky na čistotu**

**Obsah PRP.** Nejméně 80 % deklarovaného množství PRP. Stanoví se buď jako obsah ribosy (2.5.31), nebo fosforu (2.5.18), vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) nebo iontovou vylučovací kapalinovou chromatografií s pulzní ampérometrickou detekcí (2.2.29).

**Hliník.** Je-li jako sorbent použit hydroxid hlinitý, vakcína vyhovuje ve zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

**Protimikrobní konzervační látky.** Kde je to vhodné, stanoví se množství protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsahuje nejnižší prokazatelně účinné množství a nejvýše 115 % množství uvedeného v označení na obalu.

**Voda (2.5.12).** U lyofilizovaných vakcín je obsah vody nejvýše 3,0 %.

**Sterilita (2.6.1).** Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Pyrogenní látky (2.6.8).** Vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky. Na 1 kg hmotnosti králíka se vstříkne nitrožilně následující množství: 1 µg PRP v případě vakcíny s difterickým toxoidem nebo CRM 197 difterické bílkoviny jako nosičem; 0,1 µg PRP v případě vakcíny s tetanickým toxoidem jako nosičem; 0,025 µg PRP v případě vakcíny s OMP jako nosičem.

### **Uchovávání**

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

### **Označování**

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- počet mikrogramů PRP v lidské dávce;
- typ a jmenovité množství bílkovinného nosiče v jedné lidské dávce.

228. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek *Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum* zní:

”

## **Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum**

Inaktivovaná vakcína proti hepatitidě A adsorbovaná



2001

Je to suspenze vhodného kmene viru hepatitidy A pomnoženého v buněčných kulturách, inaktivovaného validovanou metodou a adsorbovaného na minerální nosič.

Vakcína vyhovuje článku *Vaccina ad usum humanum*.

### **Výroba**

Výroba vakcíny je založena na systému jednotné inokulace a na systému buněčné banky. Výrobní metoda prokazatelně poskytuje stejnorodou vakcínu, která vyhovuje požadavkům na imunogenitu, neškodnost a stabilitu.

Výrobní metoda se validuje, aby se prokázalo, že přípravek, bude-li zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost pro imunní séra a humánní vakcíny (2.6.9).

Pokud není doloženo a schváleno jinak, virus v konečném přípravku neprojde více pasážemi z matečného inokula než virus použitý k přípravě vakcíny, která vyhověla v klinických studiích z hlediska neškodnosti a účinnosti.

*Referenční přípravek.* Jako referenční přípravek se použije část reprezentativní šarže vakcíny, která byla prokazatelně ve zkoušce na zvířatech nejméně tak imunogenní jako šarže, jež v klinické studii na mladých zdravých dospělých jedincích vykazala nejméně 95% sérokonverzi, odpovídající hladině neutralizačních protilátek považované po úplné primární imunizaci za ochrannou hladinu.

Jako ochranná hladina protilátek se uznává 0,02 m.j./ml, stanoveno metodou ELISA.

### **Substrát pro pomnožování viru**

Virus se pomnožuje v linii lidských diploidních buněk (5.2.3) nebo v kontinuální linii buněk schválené oprávněnou autoritou.

### **Inokula**

Kmen viru hepatitidy A, který se používá k přípravě matečného inokula, se identifikuje vývojovými záznamy, které obsahují informace o původu kmene a o následné manipulaci s ním.

Pouze inokulum, které odpovídá následujícím požadavkům, se může použít pro pomnožování viru.

**Zkouška totožnosti.** Každé matečné a pracovní inokulum viru se identifikuje jako virus hepatitidy A pomocí specifických protilátek.

**Koncentrace viru.** Ke sledování pravidelnosti výroby se stanoví koncentrace viru v každém matečném a pracovním inokulu.

**Cizí agens.** Matečná a pracovní inokula vyhovují požadavkům na inokula pro virové vakcíny (2.6.16). Jestliže byla pro izolaci virového kmene použita kultura primárních opičích buněk, provedou se navíc opatření, aby se zajistilo, že kmen není kontaminován opičími viry, jako jsou virus opičí imunodeficiency a filoviry.

### **Pomnožování viru a sklizeň**

Veškeré činnosti s buněčnou bankou a následnými buněčnými kulturami se provádějí za aseptických podmínek v prostorách, kde nejsou zpracovávány jiné buňky. Při přípravě média pro kultivaci buněk se může použít sérum živočišného (nikoli lidského) původu. Sérum a trypsin používané při přípravě buněčné suspenze a médií jsou prokazatelně

prosty cizích agens. Médium pro kultivaci buněk může obsahovat indikátor pH, jako je fenolová červeň, a antibiotika v nejnižší účinné koncentraci. Nejméně 500 ml buněčných kultur použitých pro výrobu vakcíny se ponechá jako neinfikované buněčné kultury (kontrolní buňky). Několikanásobné sklizně z téže buněčné produkční kultury se mohou spojit a považovat za jednotlivou sklizeň.

Pouze jednotlivá sklizeň vyhovující následujícím požadavkům se může použít k přípravě vakcíny. Jestliže stanovení poměru virové koncentrace k obsahu antigenu provedené na vhodném počtu sklizní prokazuje pravidelnost výroby, může se tato zkouška následně vypustit při běžné kontrole.

**Zkouška totožnosti.** Zkouška na obsah antigenu slouží také jako zkouška totožnosti jednotlivé sklizně.

**Bakterie a houby (2.6.1).** Jednotlivá sklizeň vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

**Mykoplazmata (2.6.7).** Jednotlivá sklizeň vyhovuje zkoušce na mykoplazmata; na každou půdu se použije 1 ml.

**Kontrolní buňky.** Kontrolní buňky z kultur produkčních buněk vyhovují zkoušce totožnosti a požadavkům na cizí agens (2.6.16).

**Obsah antigenu.** Stanoví se obsah antigenu hepatitidy A vhodnou imunochemickou met, dou (2.7.1) ke sledování dodržování výrobního postupu; obsah je v rozmezí schváleném pro jednotlivý přípravek.

**Poměr koncentrace viru k obsahu antigenu.** Stálost poměru koncentrace infekčního viru, stanoveného vhodnou metodou na buněčné kultuře, k obsahu antigenu je stanoven validací na vhodném počtu jednotlivých sklizní.

### ***Purifikace a purifikovaná sklizeň***

Sklizeň, která může být spojením několika jednotlivých sklizní, se purifikuje validovanými metodami. Jsou-li pro pomnožení viru použity kontinuální buněčné linie, purifikační proces prokazatelně zahrnuje také snížení hladiny DNK hostitelských buněk.

Pouze purifikovaná sklizeň, která vyhovuje následujícím požadavkům, může být použita k přípravě inaktivované sklizně.

**Koncentrace viru.** Koncentrace infekčního viru v purifikované sklizni se stanoví na vhodnou buněčnou kulturu ke sledování dodržování výrobního postupu a jako počáteční bod pro sledování inaktivační křivky.

**Poměr antigenu k celkové bílkovině.** Stanoví se obsah antigenu viru hepatitidy A vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1). Stanoví se obsah celkové bílkoviny validovanou metodou. Poměr obsahu antigenu viru hepatitidy A k obsahu celkové bílkoviny je v rozmezí schváleném pro jednotlivý přípravek.

**Bovinní sérumalbumin.** Nejvýše 50 ng v ekvivalentu jedné lidské dávky, stanoveno vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1). Jestliže to dovolí výrobní proces, lze použít jiné vhodné bílkovinné markery k průkazu účinné purifikace.

**Zbytková DNK hostitelských buněk.** Je-li pro pomnožení viru použita kontinuální buněčná linie, obsah zbytkové DNK hostitelských buněk, stanovený vhodnou imunochemickou metodou, jak je popsáno v článku *Producta ab ADN recombinante*, je nejvýše 100 pg v ekvivalentu jedné lidské dávky.

**Zbytky chemikálií.** Pokud se při purifikačních postupech používají chemické látky, provedou se na purifikované sklizni (nebo na inaktivované sklizni) zkoušky na tyto látky, pokud validace postupu neprokáže úplné odstranění. Koncentrace nepřesahuje rozmezí schválené pro jednotlivý přípravek.

### ***Inaktivace a inaktivovaná sklizeň***

Několik purifikovaných sklizní se před inaktivací může spojit. K zamezení interference v inaktivačním procesu se předchází tvorbě virových agregátů nebo se virové agregáty odstraňují bezprostředně před nebo během inaktivačního postupu. Virová suspenze se inaktivuje validovanou metodou; metoda je prokazatelně schopna stejnoměrně inaktivovat virus hepatitidy A bez poškození antigenní a imunogenní aktivity; součástí validační studie je inaktivační křivka, reprezentující koncentraci zbytkového živého viru, měřenou nejméně třikrát (např. ve dni 0, 1 a 2 inaktivačního postupu). Při použití formaldehydu k inaktivaci se zbytky volného formaldehydu stanoví na konci inaktivačního procesu.

Pouze inaktivovaná sklizeň, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít pro přípravu konečné várky vakcíny.

**Inaktivace.** Provede se pomnožovací zkouška na přítomnost zbytků infekčního viru hepatitidy A inokulací množství inaktivované sklizně, které odpovídá 5 % šarže, nebo, jestliže sklizeň obsahuje 30 000 dávek nebo více, nejméně 1500 dávek vakcíny. Inokuluje se do buněčných kultur téhož typu, který byl použit pro přípravu vakcíny a inkubace probíhá nejméně 70 dní, ve kterých se provede nejméně jedna pasáž. Na konci inkubačního období se provede zkouška

vhodné citlivosti na přítomnost zbytkového infekčního viru. Ve vzorcích odebraných na konci inaktivace se nenaleznou známky pomnožení viru hepatitidy A. Jako pozitivní kontrola se souběžně použije infekční virus k prokázání vnímavosti buněk a nepřítomnosti interference. Inkubuje se celkem nejméně 70 dní, ve kterých se provede nejméně jedna pasáž buněk.

**Sterilita (2.6.1).** Inaktivovaná virová sklizeň vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14).** Nejvýše 2 m.j. endotoxinu v ekvivalentu jedné lidské dávky.

**Obsah antigenu.** Vhodnou imunochemickou metodou se stanoví obsah antigenu viru hepatitidy A (2.7.1).

**Zbytky chemikálií.** Viz odstavec Purifikace a purifikovaná sklizeň.

### **Konečná várka vakcíny**

Konečná várka vakcíny se připraví z jedné nebo více inaktivovaných sklizní. Mohou se přidat schválená adjuvans, stabilizátory a protimikrobní konzervační látky.

Pouze taková konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít k přípravě šarže.

**Sterilita (2.6.1).** Konečná várka vakcíny vyhovuje ve zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

**Protimikrobní konzervační látky.** Kde je to vhodné, stanoví se obsah protimikrobních konzervačních látek vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah je v rozmezí 85 % až 115 % zamýšleného množství.

### **Šarže**

Konečná várka vakcíny se asepticky rozplní do sterilních obalů. Obaly se potom uzavrou tak, aby se předešlo kontaminaci.

Pouze šarže, která vyhovuje všem požadavkům uvedeným dále v odstavcích Zkoušky totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti se může uvolnit k použití. Za předpokladu, že zkouška na volný formaldehyd (přichází-li v úvahu) a stanovení obsahu protimikrobních konzervačních látek (přichází-li v úvahu) byly provedeny v konečné várce vakcín s vyhovujícími výsledky, lze je u šarže vypustit. Jestliže bylo provedeno stanovení účinnosti na myších nebo jiných zvířatech v konečné várce s vyhovujícím výsledkem, lze u šarže tuto zkoušku vypustit.

### **Zkoušky totožnosti**

Ve vakcíně se antigen viru hepatitidy A prokáže vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) za použití specifických protilátek nebo zkouškou *in vivo* (2.7.14).

### **Zkoušky na čistotu**

**Hliník.** Jestliže byl použit jako sorbent hydratovaný fosforečnan hlinitý nebo hydroxid hlinitý, vyhovuje vakcína zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

**Volný formaldehyd.** Při použití formaldehydu k inaktivaci vyhovuje vakcína zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

**Protimikrobní konzervační látky.** Kde je to vhodné, stanoví se obsah protimikrobních konzervačních látek vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah není nižší než nejnižší prokazatelně účinné množství a není vyšší než 115 % množství uvedeného v označení na obalu.

**Sterilita (2.6.1).** Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu.

### **Stanovení účinnosti**

Vakcína vyhovuje zkoušce Stanovení účinnosti vakcíny proti hepatitidě A (2.7.14).

### **Uchovávání**

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.



## Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede biologický původ buněk použitých pro přípravu vakcíny.

“

229. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky se za článek *Vaccinum hepatitis A inactivatum et hepatitis B (ADNr) adsorbatum* doplňuje článek, který zní:

”

## **Vaccinum hepatitis A inactivatum et hepatitis B (ADNr) adsorbatum**



Adsorbovaná vakcína proti hepatitidě A (inaktivovaná) a hepatitidě B (rDNK)

Je to suspenze vhodného kmene viru hepatitidy A, pomnoženého v buněčných kulturách a inaktivovaného validovanou metodou, a povrchového antigenu viru hepatitidy B (HBsAg) základního proteinu viru hepatitidy B, získaného rekombinantní DNK technologií; tyto antigeny jsou adsorbovány na minerální nosič, jako je hydroxid hlinitý nebo hydratovaný fosforečnan hlinitý.

Vakcína vyhovuje článku *Vaccina ad usum humanum* a článku *Producta ab ADN recombinante* (pro složku hepatitidy B).

## Výroba

### Všeobecná ustanovení

Obě složky se připravují, jak je popsáno v člancích *Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum* a *Vaccinum hepatitis B (ADNr)*, a vyhovují požadavkům v nich uvedeným.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že bude-li přípravek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9).

**Referenční přípravek.** Jako referenční přípravek se použije část reprezentativní šarže vakcíny, která byla prokazatelně ve zkoušce na zvířatech nejméně tak imunogenní jako šarže, jež v klinické studii na mladých zdravých dospělých jedincích vykazala nejméně 95% sérokonverzi, odpovídající hladině neutralizačních protilátek považované po úplné primární imunizaci za ochrannou hladinu.

Pro hepatitidu A se jako ochranná hladina protilátek uznává nejméně 0,02 m.j./ml, stanoveno metodou ELISA. Pro hepatitidu B se jako ochranná hladina uznává nejméně 0,01 m.j./ml protilátek proti HBsAg.

### Konečná várka

Konečná várka vakcíny se připraví z jedné nebo více inaktivovaných sklizní viru hepatitidy A a jedné nebo více šarží purifikovaného antigenu HBsAg.

Pouze konečná várka, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít k přípravě šarže.

**Protimikrobní konzervační látky.** Je-li to vhodné, stanoví se obsah protimikrobních konzervačních látek vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah je v rozmezí 85 % až 115 % zamýšleného množství.

**Sterilita (2.6.1).** Konečná várka vakcíny vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

### Šarže

Pouze šarže, která vyhovuje všem požadavkům dále uvedeným v odstavcích Zkoušky totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti, se může uvolnit k použití. Za předpokladu, že zkouška na volný formaldehyd (je-li to vhodné) a stanovení obsahu protimikrobních konzervačních látek (je-li to vhodné) byly provedeny v konečné várce vakcíny s vyhovujícími výsledky, lze je u šarže vypustit. Jestliže stanovení účinnosti složek hepatitidy A a/nebo hepatitidy B bylo v konečné várce vakcíny provedeno *in vivo* s vyhovujícími výsledky, lze je u šarže vypustit.

### Zkoušky totožnosti

Vakcína prokazatelně obsahuje antigen viru hepatitidy A a povrchový antigen viru hepatitidy B. Prokazuje se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) za použití specifických protilátek nebo zkouškou imunogenity na myších popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Hliník.** Jestliže byl jako sorbent použit hydroxid hlinitý nebo hydratovaný fosforečnan hlinitý, vyhovuje vakcína zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

**Volný formaldehyd.** Kde je to vhodné, vyhovuje vakcína zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

**Protimikrobní konzervační látky.** Kde je to vhodné, stanoví se obsah protimikrobních konzervačních látek vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah není nižší než nejnižší prokazatelně účinné množství a není vyšší než 115 % množství uvedeného v označení na obalu.

**Sterilita (2.6.1).** Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14).** Nejvýše 2 m.j. endotoxinu v jedné lidské dávce.

### Stanovení účinnosti

**Složka hepatitidy A.** Vakcína vyhovuje Stanovení účinnosti vakcíny proti hepatitidě A (2.7.14).

**Složka hepatitidy B.** Vakcína vyhovuje Stanovení účinnosti vakcíny proti hepatitidě B (rDNK) (2.7.15).

### Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

### Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- množství antigenu viru hepatitidy A a povrchového antigenu viru hepatitidy B v obalu,
- typ buněk použitých pro přípravu vakcíny,
- název a množství použitého sorbentu,
- že se vakcína před použitím protřepe,
- že vakcína nesmí zmrznout.

230. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, články Vaccinum hepatitis B (ADNr) adsorbatum a Vaccinum hepatitis contagiosae caninae vivum cryodesiccatum znějí:

”

## Vaccinum hepatitis B (ADNr)

Vakcína proti hepatitidě B (rDNK)



Je to přípravek z povrchového antigenu viru hepatitidy B, součástí proteinu viru hepatitidy B; antigen může být adsorbován na minerální nosič, jako je hydroxid hlinitý nebo hydratovaný fosforečnan hlinitý. Tento antigen se získává rekombinantní DNK technologií.

Přípravek vyhovuje požadavkům článků *Producta ab ADN recombinante* a *Vaccina ad usum humanum*.

### Výroba

#### VŠEOBECNÁ USTANOVENÍ

Viz článek *Producta ab ADN recombinante*, zvláště v částech Klonování a exprese, Systém buněčné banky, Validace buněčných bank, Validace výrobního postupu a Dodržování výrobního postupu.

Přípravek prokazatelně podněcuje tvorbu specifických ochranných protilátek u člověka. Výrobní metoda prokazatelně poskytuje stále vakcínu, která vyhovuje požadavkům na imunogenitu a neškodnost.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že pokud bude přípravek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9).

Přípravek se vyrábí expresí virového genu kódujícího povrchový antigen viru hepatitidy B (HBsAg) v kvasinkách (*Saccharomyces cerevisiae*) nebo v savčích buňkách (buňky ovaria čínské křečka (CHO) nebo jiných vhodných buněčných linií) purifikací výsledného HBsAg a převedením tohoto antigenu do imunogenního přípravku. Vhodnost a neškodnost buněk schvaluje oprávněná autorita.

Přípravek může obsahovat produkt S genu (hlavní bílkovina), kombinaci S genového a pre-S2 genového produktu (střední bílkovina) nebo kombinaci S genového, pre-S2 genového a pre-S1 genového produktu (velká bílkovina).

*Referenční přípravek.* Jako referenční přípravek se používá část reprezentativní šarže vakcíny, která ve zkoušce na zvířatech byla prokazatelně nejméně tak imunogenní jako šarže, jež v klinické studii na mladých zdravých dospělých jedincích prokazatelně vykazala nejméně 95% sérokonverzi odpovídající hladině HBsAg neutralizujících protilátek považované po úplné primární imunizaci za ochranou hladinu. Jako ochranná hladina se uznává nejméně 0,01 m.j./ml.

### Charakteristika látky

K charakteristice antigenu se provedou vývojové studie, ve kterých se určí jeho úplná bílkovinná, lipidová a sacharidová struktura. Morfologické charakteristiky antigenních částic se stanoví elektronovou mikroskopií. Vhodná denzita antigenních částic se stanoví fyzikálně-chemickými metodami, např. gradientovou centrifugací. Charakterizují se antigenní epitopy. Bílkovinná frakce antigenu se charakterizuje primární strukturou (např. stanovením aminokyselinového složení, částečnou analýzou aminokyselinové sekvence a mapováním peptidů).

### Kultura a sklizeň

Totožnost, mikrobiologická čistota, plazmidová retence a konzistence sklizně jsou určeny vhodným výrobním uspořádáním. Jestliže byly použity savčí buňky, provedou se zkoušky na cizí antigeny a mykoplazmata podle stati Důkaz cizích antigenů v lidských virových vakcínách (2.6.16).

### **Přečištěný antigen**

Pro přípravu konečné várky se použije pouze přečištěný antigen, který odpovídá následujícím požadavkům.

**Celková bílkovina.** Stanoví se validovanou metodou. Obsah je v rozmezí schváleném pro jednotlivý přípravek.

**Totožnost a obsah antigenu.** Množství a specifita HBsAg se stanoví porovnáním s mezinárodním standardem HBsAg subtypu *ad* nebo s národním referenčním přípravkem za pomoci vhodné imunochemické metody (2.7.1), jako je radioimunoanalýza, enzymově imunosorbentové stanovení (ELISA), imunoblot (přednostně se užívají monoklonální protilátky přímo proti protektivnímu epitopu), nebo jednoduchou radiální difuzí. Poměr antigenu k bílkovině je v rozmezí schváleném pro jednotlivý přípravek.

Molekulová hmotnost v hlavním pásu zjištěná elektroforézou na polyakrylamidovém gelu s dodecylsíránem sodným (SDS-PAGE), provedenou v redukujících podmínkách, odpovídá očekávané hodnotě ze známých nukleových kyselin, polypeptidových sekvencí a možné glykosylace.

**Čistota antigenu.** Stanoví se srovnáním s referenčním přípravkem za použití kapalinové chromatografie nebo jiné vhodné metody, jako je SDS-PAGE, s barvením modří kyselou 92 a stříbrem. Vhodná metoda je dost citlivá k detekci možného znečištění v koncentraci 1 % celkové bílkoviny. Nejméně 95 % celkové bílkoviny tvoří povrchový antigen hepatitidy B.

**Složení.** Stanoví se obsah bílkovin, lipidů, nukleových kyselin a sacharidů.

**DNK hostitelských buněk a vektorem derivovaná DNK.** Jestliže se k výrobě použily savčí buňky, je nejvýše 10 pg DNK v množství přečištěného antigenu, které odpovídá jednotlivé lidské dávce vakcíny.

**Cesium.** Jestliže se při výrobě použily cesiové soli, provede se v přečištěném antigenu stanovení zbytků cesia. Obsah je v rozmezí schváleném pro jednotlivý přípravek.

**Sterilita (2.6.1).** Přečištěný antigen vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Další zkoušky se mohou u přečištěného antigenu požadovat v závislosti na použité výrobní metodě: např. stanovení zbytků zvířecího séra, jestliže byly pro výrobu použity savčí buňky, nebo zkoušky na zbytky chemikálií používaných při extrakci a čištění.

### **Konečná várka vakcíny**

Vakcína může obsahovat protimikrobní konzervační látku a adjuvans.

Pouze várka, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít pro přípravu šarže.

**Protimikrobní konzervační látky.** Kde jsou použity, stanoví se jejich obsah vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah je v rozmezí 85 % až 115 % zamýšleného množství.

**Sterilita (2.6.1).** Vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml konečné várky.

### **Šarže**

K použití se propustí jenom ta konečná šarže, která vyhovuje všem požadavkům uvedeným dále v odstavcích Zkouška totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti. Jestliže zkoušky na volný formaldehyd a obsah protimikrobních konzervačních látek byly provedeny v konečné várce vakcíny s vyhovujícími výsledky, mohou být tyto zkoušky u šarže vypuštěny. Je-li stanovení účinnosti *in vivo* provedeno s vyhovujícím výsledkem v konečné várce vakcíny, může být u konečné šarže vypuštěno.

### **Zkouška totožnosti**

Totožnost přípravku se prokáže stanovením účinnosti nebo ve vhodných případech elektroforetickým profilem.

### **Zkoušky na čistotu**

**Hliník.** Jestliže je použit hydratovaný fosforečnan hlinitý nebo hydroxid hlinitý jako sorbent, vyhovuje přípravek zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

**Volný formaldehyd.** Při použití formaldehydu vyhovuje přípravek zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

**Protimikrobní konzervační látky.** Jestliže byly použity, stanoví se jejich obsah vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Jejich obsah není nižší než prokazatelně nejmenší účinné množství a není vyšší než 115 % deklarovaného množství.

**Sterilita (2.6.1).** Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Pyrogenní látky (2.6.8).** Vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se každému králíkovi nitrožilně vstříkne ekvivalent lidské dávky.

### Stanovení účinnosti

Přípravek vyhovuje zkoušce Stanovení účinnosti vakcíny proti hepatitidě B (rDNK) (2.7.15).

### Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

### Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- obsah HBsAg v obalu,
- typ buněk použitých k výrobě vakcíny,
- název a množství sorbentu,
- že se vakcína před použitím roztřepe,
- že vakcína nesmí zmrznout.

---

## Vaccinum hepatitis contagiosae caninae vivum cryodesiccatum



2001

Živá vakcína proti infekční hepatitidě psů lyofilizovaná

---

Je to přípravek obsahující jeden nebo více oslabených kmenů psího adenoviru 1.

### Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Oslabený virus se pomnožuje ve vhodných buněčných kulturách (5.2.4).

### Výběr vakcinačního kmene

K přípravě vakcíny se může použít pouze kmen viru prokazatelně postačující z hlediska oslabení a imunogenity. K důkazu bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7) se mohou použít následující zkoušky.

**Oslabení.** Když se vnímavému štěněti starému 8 až 16 týdnů intravenózně vstříkne objem virové suspenze odpovídající jedné dávce vakcíny, nevyvolá příznaky onemocnění, ale u zvířete se do 21 dní vyvinou specifické neutralizující protilátky.

**Imunogenita.** Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity kmene.

### Zkoušení šarže

Jestliže stanovení účinnosti reprezentativní šarže vakcíny bylo provedeno s vyhovujícími výsledky, může se při běžné kontrole jiných šarží vakcíny připravených ze stejného inokula tato zkouška se souhlasem oprávněné autority vypustit.

### Zkouška totožnosti

Vakcína rozpuštěná způsobem uvedeným v označení na obalu a smíchaná s jedním nebo více specifickými antiséry, nevyvolává již specifický cytopatický efekt ve vnímavých buněčných kulturách.

### Zkoušky na čistotu

**Bezpečnost.** Dvěma vnímavým, 8 až 16 týdnů starým štěňatům, která jsou bez specifických neutralizačních protilátek, se každému podá způsobem uvedeným v označení dvojnásobek dávky rozpuštěného přípravku. Zvířata se pozorují 21 dní. Zvířata zůstanou zcela zdravá a nemají příznaky keratitidy.

**Cizí viry.** Vakcína se smíchá s příslušným monospecifickým antisérem proti psímu adenoviru 1 a inokuluje se do buněčných kultur, o nichž je známo, že jsou vnímavé na viry patogenní pro psy. Po 6 až 8 dnech se provede pasáž a buněčná kultura se udržuje 14 dní. Neobjeví se cytopatický efekt a buňky nejeví žádné známky přítomnosti hemadsorbčních látek.

**Bakterie a houby.** Rozpuštěná vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

**Mykoplazmata (2.6.7).** Rozpuštěná vakcína vyhovuje ve zkoušce na mykoplazmata.

**Titr viru.** Titr rozpuštěné vakcíny se stanoví na vhodných buněčných kulturách. Jedna dávka vakcíny obsahuje nejméně takové množství viru, které odpovídá nejnižšímu titru uvedenému v označení na obalu.

### Stanovení účinnosti

Použije se sedm vnímavých štěňat ve stáří 8 až 16 týdnů, která nemají protilátky proti psím adenovirům. Způsobem uvedeným v označení se každému z pěti zvířat vstříkne objem rozpuštěné vakcíny, obsahující množství viru, které odpovídá nejnižšímu titru uvedenému v označení. Dvě další štěňata se ponechají jako kontroly. Všechna zvířata se pozorují 21 dní. Potom se každému zvířeti nitrožilně vstříkne takové množství virulentního kmene infekční hepatitidy psů, které u vnímavých psů stačí k vyvolání úhynu nebo typických příznaků nemoci. Zvířata se pozorují dalších 21 dní. Vakcinovaná zvířata zůstanou zdravá a kontrolní zvířata uhynou na hepatitidu nebo jeví typické příznaky vážné infekce. Pokud jedno z kontrolních zvířat nemá žádné příznaky nemoci, stanovení se opakuje.

### Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

### Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

231. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek *Vaccinum morbi Carrei vivum cryodesiccatum ad mustelidis* zní:

”

---

## **Vaccinum morbi Carrei vivum cryodesiccatum ad mustelidas**

Živá vakcína proti psince lasicovitých lyofilizovaná



2001

---

### **Definice**

Je to přípravek z kmene viru psinky, který je oslaben pro fretky.

### **Výroba**

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Oslabený kmen se pomnoží ve vhodných buněčných kulturách (5.2.4) nebo kuřecích embryích získaných ze zdravých hejn.

### **Výběr vakcinačního kmene**

Pouze virový kmen prokazatelně odpovídající z hlediska oslabení a imunogenity se může použít k přípravě vakcíny. K průkazu bezpečnosti (5.2.6) a účinnosti (5.2.7) se mohou použít následující zkoušky.

**Oslabení.** Když se objem virové suspenze odpovídající pěti dávkám vakcíny intramuskulárně vstříkne každé ze dvou vnímavých fretek, nevyvolá během 21 dní patogenní efekty.

**Imunogenita.** Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity virového kmene.

### **Zkoušení šarže**

Jestliže stanovení účinnosti reprezentativní šarže vakcíny bylo provedeno s vyhovujícími výsledky, může se při rutinní kontrole jiných šarží vakcíny připravených z téhož inokula tato zkouška vypustit, pokud k tomu dá souhlas oprávněná autorita.

### **Zkouška totožnosti**

Vakcína rekonstituovaná podle pokynů v označení na obalu a smíchaná s psinkovým antisérem nevyvolá již cytopatické efekty ve vnímavých buněčných kulturách nebo změny na chorioalantoidních membránách kuřecích embryí starých 9 až 11 dní.

### **Zkoušky na čistotu**

**Bezpečnost.** Dvěma vnímavým fretkám prostým protilátek neutralizujících virus psinky se vstříkne po dvojnásobku dávky rekonstituované vakcíny způsobem uvedeným v označení na obalu. Zvířata se pozorují 21 dní. Zvířata zůstávají zdravá bez významné místní či celkové reakce.

**Cizí viry.** Rekonstituovaná vakcína se smíchá s monospecifickým antisérem. Na vnímavých buněčných kulturách již nevyvolá cytopatický efekt ani nejeví známky přítomnosti hemaglutinačních nebo hemadsorpčních agens.

**Bakterie a houby.** Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

**Mykoplazmata (2.6.7).** Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na mykoplazmata.

**Titř viru.** Titr rekonstituované vakcíny se stanoví ve vhodných buněčných kulturách nebo kuřecích embryích 9 až 11 dní starých. Jedna dávka vakcíny obsahuje nejméně takové množství viru, které odpovídá nejnižšímu titru uvedenému v označení na obalu.

### Stanovení účinnosti

Použije se sedm vnímavých fretok prostých protilátek neutralizujících virus psinky. Pět fretok se vakcinuje podle návodu na použití. Další dvě fretky se ponechají jako kontroly. Všechna zvířata se pozorují 21 dní. Potom se všem zvířatům intramuskulárně vstříkne takové množství psinkového viru, které je schopné vyvolat u vnímavých fretok úhyn. Zvířata se pozorují dalších 21 dní. Zkouška je neplatná, pokud jedna nebo obě kontrolní fretky neuhynou na psinku. Vakcína vyhovuje zkoušce, pokud vakcinované fretky zůstanou zdravé.

### Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

### Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

“

232. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Vaccinum variolae gallinaceae vivum cryodesiccatum* doplňují články *Vaccinum vibriosidis ad salmonideos inactivatum* a *Vaccinum vibriosidis aquae frigidae inactivatum ad salmonideos*, které znějí:

”

---

## **Vaccinum vibriosidis ad salmonideos inactivatum**

Inaktivovaná vakcína proti vibrióze lososovitých ryb



2001

Je to přípravek z kultur jednoho nebo více vhodných kmenů nebo serovarů *Vibrio anguillarum*; vakcína může obsahovat také *Vibrio ordalii*.

### Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Kmeny *Vibrio anguillarum* a *Vibrio ordalii* se kultivují a sklízí odděleně. Získané sklizně se inaktivují vhodnou metodou a mohou se purifikovat a koncentrovat. Mohou se použít neporušené nebo desintegrovane buňky a vakcína může obsahovat extracelulární produkty bakterií uvolněné do živné pŕdy.

### Výběř složenř vakcíny

Použitě kmeny *V. anguillarum* a *V. ordalii* jsou prokazatelně vhodné z hlediska tvorby antigenů předpokládaného imunologického významu. Vakcína je prokazatelně uspokojivá z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7) pro ty druhy ryb, pro které je určena. K průkazu bezpečnosti a imunogenity se mohou použít následující zkoušky.



### **Bezpečnost.**

Bezpečnost se zkouší na třech různých šaržích za použití zkoušky A, zkoušky B nebo obou, v závislosti na doporučeních k použití.

**A. Vakcíny určené pro injekční podání.** Zkouška se provede na každém druhu ryb, pro který je vakcína určena. Použijí se ryby z populace bez specifických protilátek proti odpovídajícím serovarům *V. anguillarum* nebo, kde je to vhodné, *V. ordalii*, které nebyly vakcinovány proti vibrióze ani jí nebyly vystaveny. Zkouška se provádí v podmínkách doporučených pro použití vakcíny ve vodě o teplotě nejméně 10 °C. Nejméně padesáti rybám o nejmenší doporučené hmotnosti se každé intraperitoneálně vstříkne množství vakcíny odpovídající dvojnásobku dávky doporučené na jednotku hmotnosti. Ryby se pozorují 21 dní. Neprojeví se žádná abnormální místní nebo systémová reakce.

Zkouška je neplatná, uhynie-li více než 6 % ryb z důvodů, jež nelze přisoudit vakcíně.

**B. Vakcíny určené k aplikaci ponořením.** Zkouška se provede na každém druhu ryb, pro který je vakcína určena. Použijí se ryby z populace bez specifických protilátek proti odpovídajícím serovarům *V. anguillarum*, nebo kde je to vhodné, *V. ordalii*, a které nebyly vakcinovány proti vibrióze ani jí nebyly vystaveny. Zkouška se provádí v podmínkách doporučených pro použití vakcíny ve vodě o teplotě nejméně 10 °C. Připraví se lázeň s dvojnásobnou koncentrací vakcíny oproti koncentraci doporučené. Ve zkoušce se použije nejméně padesát ryb o nejmenší hmotnosti doporučené pro vakcinaci. Ryby jsou v lázni máčeny po dvojnásobnou dobu, než je doporučeno; pozorují se 21 dní. Neprojeví se žádné abnormální místní nebo systémové reakce.

Zkouška je neplatná, uhynie-li více než 6 % ryb z důvodů, jež nelze přisoudit vakcíně.

**C. Bezpečnost se prokazuje také terénními zkouškami podáním zamýšlené dávky dostatečnému počtu ryb chovaných nejméně ve dvou provozech. Neprojeví se žádné abnormální reakce.**

*Imunogenita.* Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti provedená každým z doporučených způsobů podání je vhodná k průkazu imunogenity vakcíny.

### **Zkoušení šarže**

**Zkouška účinnosti šarže.** Při běžném zkoušení šarží vakcíny se může provádět zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti za použití skupiny nejméně třiceti ryb jednoho z druhů, pro který je vakcína určena. Alternativně se může použít vhodná validovaná zkouška založená na protilátkové odpovědi. Kritéria se stanoví s přihlédnutím k té šarži vakcíny, která dávala vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti. Následující zkouška se může použít po získání uspokojivé korelace se zkouškou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

Použijí se ryby z populace bez specifických protilátek proti odpovídajícím serovarům *V. anguillarum* nebo, kde je to vhodné, *V. ordalii*, jejichž hmotnost odpovídá stanoveným limitům. Zkouška se provede při stanovené teplotě. Nejméně dvacetipěti rybám se vstříkne po jedné dávce vakcíny podle návodu k použití. Nejméně deseti rybám v kontrolní skupině se vstříkne placebo. V určené době po vakcinaci se odeberou vzorky krve. V každém vzorku se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) stanoví titr specifických protilátek proti různým sérovarům *V. anguillarum* a *V. ordalii* obsaženým ve vakcíně. Vakcína vyhovuje, není-li průměrný titr protilátek výrazně nižší než titr zjištěný u šarže vakcíny, která vyhověla zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti. Zkouška je neplatná, jsou-li v kontrolní skupině prokázány protilátky proti relevantním sérovarům *V. anguillarum* nebo, kde je to vhodné, proti *V. ordalii*.

### **Zkouška totožnosti**

Vakcína podaná rybám bez specifických protilátek proti *V. anguillarum* a, kde je to vhodné, proti *V. ordalii*, podporuje tvorbu těchto protilátek.

### **Zkoušky na čistotu**

**Bezpečnost.** Použije se nejméně deset ryb jednoho z druhů, pro který je vakcína určena, pokud možno o nejmenší hmotnosti doporučené pro vakcinaci; nejsou-li k dispozici ryby o této hmotnosti, použijí se ryby o hmotnosti nejvýše dvojnásobné. Použijí se ryby, které nemají specifické protilátky proti relevantním sérovarům *V. anguillarum* a, kde je to vhodné, *V. ordalii* a které nebyly vakcinovány proti vibrióze ani jí nebyly vystaveny. Zkouška se provádí v podmínkách doporučených pro použití vakcíny ve vodě o teplotě nejméně 10 °C. Vakcíny určené k aplikaci injekční nebo ponořením se

intraperitoneálně vstříknou každé rybě v množství vakcíny odpovídajícím dvojnásobku doporučené dávky na jednotku hmotnosti.

Pro vakcíny určené jen k aplikaci ponořením se připraví lázeň s dvojnásobnou koncentrací vakcíny a ryby jsou v ní máčeny po dvojnásobnou dobu, než je doba doporučená.

Ryby se pozorují 21 dní. Nejistí se žádné abnormální nebo systémové reakce, jež by bylo možné přisoudit vakcíně.

Zkouška je neplatná, uhne-li více než 10 % ryb z důvodů, jež by bylo možné přisoudit vakcíně.

**Sterilita.** Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

### Stanovení účinnosti

Provede se zvláštní zkouška pro každý bakteriální druh a serovar obsažený ve vakcíně. Zkouška se provádí podle protokolu určujícího limity hmotnosti ryb, zdroje vody, její průtok a teplotu a přípravu standardizované čelenže.

Nejméně sto ryb se vakcinuje doporučeným způsobem podle návodu k použití. Nejméně stu ryb v kontrolní skupině se vstříkne placebo. Vakcinované a kontrolní ryby se pro identifikaci označí. Všechny ryby se drží v jedné nádrži, nebo se nasadí stejný počet vakcinovaných a kontrolních ryb do více nádrží. Ve stanoveném časovém intervalu po vakcinaci, definovaném podle údajů s ohledem na vývoj imunity, se ryby injekčně čelenžují. K čelenži se používají kultury *V. anguillarum*, případně *V. ordalii*, jejichž virulence byla ověřena.

Ryby se pozorují denně, dokud není dosaženo nejméně 60 % specifických úhynů v kontrolní skupině. Pro obě skupiny ryb se sestrojí křivka specifické mortality v závislosti na době od čelenže. Interpolací se stanoví doba odpovídající 60 % specifické mortality kontrol.

Zkouška je neplatná, je-li v kontrolní skupině do 21 dní po prvním úhynu ryb zjištěna specifická mortalita nižší než 60 %. Z křivky pro vakcinované ryby se zjistí mortalita ( $M$ ) v době odpovídající 60% mortality u kontrol. Relativní procento přežití (RPP) se vypočítá ze vzorce:

$$\left(1 - \frac{M}{60}\right) \cdot 100.$$

Vakcína vyhovuje, jestliže hodnota RPP je nejméně 60 % pro vakcíny aplikované ponořením a 75 % pro vakcíny aplikované injekčně.

### Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

### Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede:

- serovar nebo serovary *V. anguillarum* obsažené ve vakcíně,
- údaj o případném použití *V. ordalii*,
- informace o době potřebné k vývoji imunity po vakcinaci při dodržení podmínek odpovídajících doporučenému použití.

## Vaccinum vibriosidis aquae frigidae inactivatum ad salmonideos



2001

Inaktivovaná vakcína proti vibrióze lososovitých ryb v chladných vodách

Je to přípravek z kultur jednoho nebo více vhodných kmenů *Vibrio salmonicida*.

## Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Kmeny *Vibrio salmonicida* se kultivují a sklízí odděleně. Získané kultury se inaktivují vhodnou metodou a mohou se purifikovat a koncentrovat. Mohou se použít neporušené nebo dezintegrované buňky a vakcína může obsahovat extracelulární produkty bakterií uvolněné do živné půdy.

### Výběr složení vakcíny

Použitý kmen nebo kmeny *V. salmonicida* jsou prokazatelně vhodné z hlediska tvorby antigenů předpokládaného imunologického významu. Vakcína je prokazatelně uspokojivá z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7) pro ty druhy ryb, pro které je určena. K průkazu bezpečnosti a imunogenity se mohou použít tyto zkoušky:

**Bezpečnost.** Bezpečnost se zkouší na třech různých šaržích vakcíny za použití zkoušky A, zkoušky B nebo obou, v závislosti na doporučeních k použití.

**A. Vakcíny určené pro injekční podání.** Zkouška se provede na každém druhu ryb, pro který je vakcína určena. Použijí se ryby z populace bez specifických protilátek proti *V. salmonicida*, které nebyly vakcinovány proti vibrióze v chladných vodách a ani jí nebyly vystaveny. Zkouška se provádí v podmínkách doporučených pro použití vakcíny ve vodě o teplotě nejméně 10 °C.

Nejméně padesáti rybám o nejmenší doporučené hmotnosti se každé intraperitoneálně vstříkne množství vakcíny odpovídající dvojnásobku dávky doporučené na jednotku hmotnosti. Ryby se pozorují 21 dní. Neprojeví se žádná abnormální místní nebo systémová reakce. Zkouška je neplatná, uhynie-li více než 6 % ryb z důvodů, jež nelze přisoudit vakcíně.

**B. Vakcíny určené k aplikaci ponořením.** Zkouška se provede na každém druhu ryb, pro který je vakcína určena. Použijí se ryby z populace bez specifických protilátek proti *V. salmonicida*, které nebyly vakcinovány proti vibrióze chladných vod ani jí nebyly vystaveny. Zkouška se provede v podmínkách doporučených pro použití vakcíny ve vodě o teplotě nejméně 10 °C. Připraví se lázeň s dvojnásobnou koncentrací vakcíny oproti koncentraci doporučené. Ve zkoušce se použije nejméně padesát ryb o hmotnosti ne menší, než je nejmenší hmotnost doporučená pro vakcinaci. Ryby jsou v lázni máčeny po dvojnásobnou dobu, než je doporučeno; pozorují se 21 dní. Neprojeví se žádné abnormální místní nebo systémové reakce. Zkouška je neplatná, uhynie-li více než 6 % ryb z důvodů, jež nelze přisoudit vakcíně.

**C. Bezpečnost se prokazuje také terénními zkouškami podáním zamýšlené dávky dostatečnému počtu ryb umístěných nejméně ve dvou provozech.** Neprojeví se žádné abnormální reakce.

**Imunogenita.** Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti, provedená každým z doporučených způsobů podání, je vhodná k průkazu imunogenity vakcíny.

### Zkoušení šarže

**Zkouška účinnosti šarže.** Při běžném zkoušení šarží vakcíny se může provádět zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti za použití skupiny nejméně třiceti ryb jednoho z druhů, pro který je vakcína určena. Alternativně se může použít vhodná validovaná zkouška založená na protilátkové odpovědi. Kritéria se stanoví s přihlédnutím k té šarži vakcíny, která dávala vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti. Následující zkouška se může použít po získání uspokojivé korelace se zkouškou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

Použijí se ryby z populace bez specifických protilátek proti *V. salmonicida* o hmotnosti odpovídající stanoveným limitům. Zkouška se provede při definované teplotě. Skupině nejméně dvaceti pěti ryb se každé vstříkne jedna dávka vakcíny podle návodu k použití. Nejméně deseti rybám v kontrolní skupině se vstříkne placebo. V určené době po vakcinaci se odeberou vzorky krve. V každém vzorku se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) stanoví titer specifických protilátek proti *V. salmonicida*.

Vakcína vyhovuje, není-li průměrný titer protilátek výrazně nižší než titer šarže vakcíny, která vyhověla zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti. Zkouška je neplatná, jsou-li v kontrolní skupině prokázány protilátky proti *V. salmonicida*.

## Zkouška totožnosti

Vakcína podaná rybám bez specifických protilátek proti *V. salmonicida* podporuje tvorbu těchto protilátek.

## Zkoušky na čistotu

**Bezpečnost.** Použije se nejméně deset ryb jednoho z druhů, pro který je vakcína určena, pokud možno o nejmenší hmotnosti doporučené pro vakcinaci; nejsou-li k dispozici ryby o této hmotnosti, použijí se ryby o hmotnosti nejvýše dvojnásobné. Použijí se ryby, které nemají specifické protilátky proti *V. salmonicida* a které nebyly vakcinovány proti vibrióze chladných vod ani jí nebyly vystaveny. Zkouška se provádí v podmínkách doporučených pro použití vakcíny ve vodě o teplotě nejméně 10 °C.

Vakcíny určené k injekční aplikaci nebo ponořením se každé rybě vstříknou intraperitoneálně v množství vakcíny odpovídající dvojnásobku doporučené dávky na jednotku hmotnosti.

Pro vakcíny určené jen k aplikaci ponořením se připraví lázeň s dvojnásobkem doporučené koncentrace vakcíny a ryby jsou v ní máčeny po dvojnásobnou dobu, než je doba doporučená. Ryby se pozorují 21 dní. Nezjistí se žádné abnormální místní nebo systémové reakce, jež by bylo možné přisoudit vakcíně.

Zkouška je neplatná, uhynie-li více než 10 % ryb z důvodů, jež by bylo možné přisoudit vakcíně.

**Sterilita.** Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

## Stanovení účinnosti

Zkouška se provede podle protokolu určujícího limity tělesné hmotnosti ryb, zdroje vody, její průtok a teplotu a přípravu standardizované čelenže. Nejméně sto ryb se vakcinuje doporučeným způsobem podle návodu k použití.

Nejméně stu ryb v kontrolní skupině se vstříkne placebo. Vakcinované a kontrolní ryby se označí pro identifikaci. Obě skupiny ryb se drží v jedné nádrži, nebo se do více nádrží nasadí stejný počet vakcinovaných a kontrolních ryb.

Ve stanoveném časovém intervalu po vakcinaci, definovaném podle údajů s ohledem na vývoj imunity, se ryby injekčně čelenžují. K čelenži se použije kultura *V. salmonicida*, jejíž virulence byla ověřena. Ryby se pozorují denně, dokud není dosaženo nejméně 60 % specifických úhynů v kontrolní skupině. Pro obě skupiny - vakcinovanou i kontrolní - se sestrojí křivka specifické mortality od čelenže. Interpolací se stanoví doba odpovídající 60 % specifické mortality kontrol.

Zkouška je neplatná, je-li v kontrolní skupině zjištěna specifická mortalita nižší než 60 % za 21 dní po prvním úhynu ryb. Z křivky pro vakcinované ryby se zjistí mortalita ( $M$ ) v době odpovídající 60% mortalitě u kontrol. Relativní procento přežití (RPP) se vypočítá ze vzorce:

$$\left(1 - \frac{M}{60}\right) \cdot 100.$$

Vakcína vyhovuje, jestliže hodnota RPP je nejméně 60 % pro vakcíny určené k aplikaci ponořením a 90 % pro vakcíny aplikované injekčně.

## Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

## Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede informace o době potřebné k vývoji imunity po vakcinaci při dodržení podmínek odpovídajících doporučenému použití.

233. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.3 Radiofarmaceutické přípravky se před článek *Aquae tritiatæ* ( $^3\text{H}$ ) *solutio iniectionabilis* vkládají články *Ammoniaæ* ( $^{13}\text{N}$ ) *solutio iniectionabilis* a *Aquae* ( $^{15}\text{O}$ ) *solutio iniectionabilis*, které znějí:

”

## **Ammoniaæ ( $^{13}\text{N}$ ) solutio iniectionabilis**

Injekce s amoniakem ( $^{13}\text{N}$ )



2001

Je to sterilní roztok [ $^{13}\text{N}$ ]amoniaku pro diagnostické použití. Injekce obsahuje 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity dusíku-13 k referenčnímu datu a hodině uvedeným v označení. Nejméně 99 % celkové radioaktivity odpovídá dusíku-13 ve formě [ $^{13}\text{N}$ ]amoniaku. Nejméně 99,0 % celkové radioaktivity odpovídá dusíku-13.

### **Výroba**

#### ***Výroba radionuklidu***

Dusík-13 je radioaktivní izotop dusíku, který může být vyroben různými jadernými reakcemi, jako je bombardování uhlíku-13 nebo kyslíku-16 protony, nebo bombardování uhlíku-12 deuterony.

#### ***Radiochemická syntéza***

[ $^{13}\text{N}$ ]amoniak se může vyrábět bombardováním vody protony a následnou redukcí redukčním činidlem, což vede ke vzniku směsi [ $^{13}\text{N}$ ]dusičnanů/dusitanů. Amoniak se získá destilací z reakční směsi a je zachycován ve slabě okyseleném roztoku.

Jinými způsoby se může vyrábět [ $^{13}\text{N}$ ]amoniak „v terči“ bombardováním vody obsahující malé množství ethanolu nebo kyseliny octové, nebo bombardováním kaše práškového uhlíku-13 ve vodě protony. Aby se odstranily radiochemické a radionuklidové nečistoty, může se výsledný roztok čistit výměnou na koloně za použití anexu a katexu.

Výrobní systémy a jejich uspořádání vyhovují požadavkům uvedeným v článku *Radiofarmaca*.

### **Suroviny**

Terčové materiály vyhovují požadavkům uvedeným v článku *Radiofarmaca*.

### **Vlastnosti**

Čirý bezbarvý roztok

Dusík-13 má poločas přeměny 9,96 min a emituje pozitrony o maximální energii 1,198 MeV s následnou anihilací na gama záření o energii 0,511 MeV.

### **Zkoušky totožnosti**

A. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Pouze fotony gama mají energii 0,511 MeV a v závislosti na geometrii měření se může pozorovat součtový pik o energii 1,022 MeV.

B. Zkouška (a) Radionuklidová čistota, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Radiochemická čistota. Hlavní pik na radiochromatogramu zkoušeného roztoku má přibližně stejný retenční čas jako hlavní pik na radiochromatogramu porovnávacího roztoku.

## Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,5 až 8,5.

## Chemická čistota

**Hliník.** Ve zkumavce o vnitřním průměru přibližně 12 mm se smíchá 1 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 4,6* a 2 ml zkoušeného přípravku zředěného 1 : 20 ve *vodě R*. Přidá se 0,05 ml roztoku *chromazurolu S R* (10 g/l). Po 3 min není zbarvení roztoku intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně a stejným způsobem za použití 2 ml základního *roztoku hliníku* (2 µg Al/ml) zředěného 1 : 20 (2 µg Al/ml).

Injekce může být použita před dokončením zkoušky.

## Radionuklidová čistota

(a) *Poločas přeměny*. 9 min až 11 min; měří se způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*.

(b) *Nečistoty gama*. Vzorek zkoušeného přípravku se ponechá 2 h. Zaznamenaná se spektrum záření gama přeměněného vzorku na přítomnost radionuklidových nečistot, které se pokud možno, identifikují a kvantifikují. Celkové množství radioaktivity gama připadající na tyto nečistoty nepřevyšuje 1,0 % celkové radioaktivity.

Injekce může být použita před dokončením zkoušek (a) a (b).

**Radiochemická čistota.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** Zkoušený přípravek.

**Porovnávací roztok.** 1 ml *amoniaku zředěného RS2* se zředí *vodou R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,04 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *katexem R* (10 µm),
- mobilní fáze, kterou je *kyselina dusičná 0,002 mol/l RS*; průtoková rychlost je 2 ml/min,
- vhodného detektoru radioaktivity,
- vhodného detektoru vodivosti,
- injektorové smyčky.

Teplota kolony se udržuje při konstantní teplotě při 20 °C až 30 °C.

Odděleně se nastříkne zkoušený roztok a porovnávací roztok. Chromatogram získaný s radioaktivním detektorem pro zkoušený roztok vykazuje hlavní pík s přibližně stejným retenčním časem jako pík na chromatogramu porovnávacího roztoku získaný s detektorem vodivosti. Nejméně 99 % celkové radioaktivity odpovídá dusíku-13 ve formě amoniaku.

Injekce může být použita před dokončením zkoušky.

**Sterilita.** Vyhovuje zkoušce na sterilitu uvedené v článku *Radiofarmaca*.

Injekce může být použita před dokončením zkoušky.

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14). Nejvýše 175/IV m.j. v mililitru. *V* je maximální doporučená dávka v mililitrech.

Injekce může být použita před dokončením zkoušky.

## Stanovení radioaktivity

Vhodným přístrojem se změří radioaktivita postupem uvedeným v článku *Radiofarmaca* a porovná se s referenčním roztokem fluoru-18 nebo se změří na přístroji kalibrovaném pomocí tohoto roztoku. Referenční roztoky fluoru-18 se získají od národní laboratoře uznané oprávněnou autoritou.

## Uchovávání

Viz článek *Radiofarmaca*.

## Označování

Viz článek *Radiofarmaca*.

**Nečistoty**

- A.  $[^{13}\text{N}]\text{O}_2^-$ ,
- B.  $[^{13}\text{N}]\text{O}_3^-$ ,
- C.  $[^{18}\text{F}]$ ,
- D.  $\text{H}_2 [^{15}\text{O}]$ .

**Aquae ( $^{15}\text{O}$ ) solutio iniectabilis**Injekce s ( $^{15}\text{O}$ ) vodou

Je to sterilní roztok [ $^{15}\text{O}$ ]vody pro diagnostické použití. Injekce obsahuje 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity kyslíku-15 k referenčnímu datu a hodině uvedeným v označení. Nejméně 99 % celkové radioaktivity odpovídá kyslíku-15 ve formě vody.

**Výroba****Výroba radionuklidu**

Kyslík-15 je radioaktivní izotop kyslíku, který může být vyroben různými jadernými reakcemi, jako je bombardování dusíku-15 protony nebo bombardování dusíku-14 deuterony.

**Radiochemická syntéza**

Aby se získal molekulární kyslík-15 z plynného dusíku v terči, přidá se kyslík ve formě nosiče o koncentraci v rozmezí obvykle od 0,2 % (V/V) do 1 % (V/V). [ $^{15}\text{O}$ ]voda se může vyrobit z [ $^{15}\text{O}$ ]kyslíku reakcí s vodíkem za použití vhodného katalyzátoru.

Alternativní metodou je výroba [ $^{15}\text{O}$ ]vody přidáním vodíku k ozařovanému plynu terči o koncentraci obvykle v rozmezí od 2 % (V/V) do 5 % (V/V).

Vodní [ $^{15}\text{O}$ ]pára obsažená v proudu plynu se buď probublá zásobníkem s obsahem sterilního roztoku chloridu sodného (0,9 g/l), nebo difuzí do tohoto roztoku přes membránový filtr pro dialýzu.

Možnou chemickou nečistotou v [ $^{15}\text{O}$ ]vodě je amoniak. Může vzniknout buď katalytickou přeměnou vodíku a dusíku na katalyzátoru, nebo radiolýzou, jestliže se pro výrobu použije alternativní metoda. Ačkoliv tyto nečistoty mohou být účinně odstraněny z plynné fáze natronovým vápnem a aktivním uhlím, mohou proniknout do konečného přípravku.

Výrobní systémy a jejich uspořádání vyhovují požadavkům uvedeným v článku *Radiofarmaca*.

**Suroviny**

Terčové materiály plně vyhovují požadavkům popsáním v článku *Radiofarmaca*.

**Vlastnosti**

Čirý bezbarvý roztok.

Kyslík-15 má poločas přeměny 2,04 min a emituje pozitrony o maximální energii 1,732 MeV s následnou anihilací na gama záření o energii 0,511 MeV.

**Zkoušky totožnosti**

A. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem popsáním v článku *Radiofarmaca*. Pouze fotony gama mají energii 0,511 MeV a v závislosti na geometrii měření může být pozorován součtový pík o energii 1,022 MeV.

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

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Radiochemická čistota. Retenční čas druhého píku odpovídá radioaktivitě nulového objemu.

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,5 až 8,5.

### Chemická čistota

(a) **Amoniak** (2.4.1). 1 ml vyhovuje limitní zkoušce na amoniak (10 µg/ml).

(b) **Dusičnany**. K 1 ml zkoušeného přípravku se přidá 49 ml vody prosté dusičnanů R. K 5 ml tohoto roztoku ve zkumavce ponořené ve vodě s ledem se přidá 0,4 ml roztoku chloridu draselného R (100 g/l), 0,1 ml difenylaminu RS a po kapkách za stálého třepání 5 ml kyseliny sírové R. Zkumavka se umístí do vodní lázně zahřáté na 50 °C. Po 15 min není modré zbarvení roztoku intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně a stejným způsobem se smísí 4,5 ml vody prosté dusičnanů R a 0,5 ml základního roztoku dusičnanu (2 µg/NO<sub>3</sub>/ml) (10 µg/ml).

Přípravek může být použit před dokončením zkoušek (a) a (b).

Radionuklidová čistota. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku fluoru-18. Referenční roztoky fluoru-18 se získávají od laboratoře uznané oprávněnou autoritou.

Poločas přeměny změřený způsobem uvedenými v článku *Radiofarmaca* je v 1,9 min až 2,2 min. Nejméně 99 % celkové radioaktivity připadá na kyslík-15.

Přípravek může být použit před dokončením zkoušky.

**Radiochemická čistota**. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok*. Zkoušený přípravek.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné silikagelem aminopropylsilanizovaným pro chromatografii R (10 µm),
- mobilní fáze, která je roztokem dihydrogenfosforečnanu draselného R (10 g/l) upraveného kyselinou fosforečnou R na hodnotu pH 3; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- vhodného detektoru radioaktivity,
- injektorové smyčky,
- detekčního systému, který je uspořádán tak, že mezi injektorem a kolonou je detektor radioaktivity, který byl kalibrován na účinnost měření.

Kolona se udržuje při konstantní teplotě 20 °C až 30 °C.

Nastříkne se zkoušený roztok. Chromatogram se zaznamenává 10 min. Na získaném chromatogramu odpovídá první pík radioaktivitě zkoušeného roztoku, druhý pík odpovídá množství radioaktivity ve formě vody [<sup>15</sup>O]. Z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku se vypočítá procentuální obsah [<sup>15</sup>O]vody. Nejméně 99 % celkové radioaktivity odpovídá kyslíku-15 ve formě vody.

Přípravek může být použit před dokončením zkoušky.

**Sterilita**. Vyhovuje zkoušce na sterilitu uvedené v článku *Radiofarmaca*. Přípravek může být použit před dokončením zkoušky.

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14). Nejvýše 175/V m.j. endotoxinu v mililitru, kde V je maximální podaný objem v mililitrech.

Přípravek může být použit před dokončením zkoušky.

### Stanovení radioaktivity

Změří se radioaktivita postupem popsaným v článku *Radiofarmaca* za použití vhodného zařízení a porovná se s referenčním roztokem fluoru-18 nebo se změří přístrojem kalibrovaným pomocí tohoto roztoku.

### Uchovávání

Viz článek *Radiofarmaca*.



## Označování

Viz článek *Radiofarmaca*.

“

234. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.3 Radiofarmaceutické přípravky se za článek *Aquae tritiatæ (<sup>3</sup>H) solutio iniectionis* zařazuje článek *Cyanocobalamini (<sup>58</sup>Co) capsulae*, který zní:

”

## Cyanocobalamini (<sup>58</sup>Co) capsulae

Tobolka s kyanokobalaminem (<sup>58</sup>Co)



2001

Je to tobolka obsahující kyanid [<sup>58</sup>Co]- $\alpha$ -(5,6-dimethylbenzimidazol-1-yl)kobamidu. Může obsahovat vhodné pomocné látky. Kobalt-58 je radioaktivní izotop kobaltu a může být vyroben ozařováním niklu neutrony. Kyanokobalamin (<sup>58</sup>Co) může být připraven růstem vhodných mikroorganismů v prostředí obsahujícím (<sup>58</sup>Co) kobaltový iont. Nejméně 84 % kobaltu-58 je ve formě kyanokobalaminu. Tobolky vyhovují požadavkům na tvrdé tobolky uvedeným v článku *Capsulae*, pokud není uvedeno a schváleno jinak. Rozmezí radioaktivity je 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity kobaltu-58 k datu uvedenému v označení.

## Vlastnosti

Tvrdé želatinové tobolky.

Kobalt-58 má poločas přeměny 70,9 dní a emituje záření beta ( $\beta^+$ ) a záření gama.

## Zkoušky totožnosti

- A. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem popsaným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra porovnávacího roztoku kobaltu-58. Referenční roztoky kobaltu-58 se získávají od laboratoří, které uznala oprávněná autorita. Nejvíce zastoupené fotony kobaltu-58 mají energie 0,511 MeV (anihilační pík) a 0,811 MeV.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Radiochemická čistota. Retenční čas hlavního píku na radiochromatogramu je téměř shodný s retenčním časem píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

## Zkoušky na čistotu

**Radionuklidová čistota.** Zaznamená se spektrum záření gama způsobem popsaným v článku *Radiofarmaca* přístrojem kalibrovaným pomocí referenčních roztoků kobaltu-58, kobaltu-57 a kobaltu-60. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku kobaltu-58. Referenční roztoky kobaltu-58, kobaltu-57 a kobaltu-60 se získají od laboratoří, které uznala oprávněná autorita. Stanoví se relativní obsah přítomného kobaltu-58, kobaltu-57 a kobaltu-60. Kobalt-57 má poločas přeměny 272 dní a jeho přítomnost ukazují fotony gama o energii 0,122 MeV. Kobalt-60 má poločas přeměny 5,27 let a jeho přítomnost ukazují fotony gama o energiích 1173 MeV a 1333 MeV. Z celkové radioaktivity připadá nejvýše 1 % na kobalt-60, 2 % na kobalt-57, kobalt-60 a ostatní radionuklidové nečistoty.

**Radiochemická čistota.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** Obsah tobolky se rozpustí v 1,0 ml vody R a nechá se 10 min stát. Odstředí se 10 min při 2000 ot/min. Použije se supernatantní tekutina.

*Porovnávací roztok.* 10 mg kyanokobalaminu CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 100 ml. Použitelnost roztoku je 1 h od přípravy.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R* a roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R* (10 g/l) (26,5 + 73,5), jehož pH bylo upraveno na hodnotu 3,5 *kyselinou fosforečnou R*; průtoková rychlost je 1,0 ml/min. Směs lze použít do 2 dnů od přípravy,
- detektoru radioaktivity nastaveného na kobalt-58,
- spektrofotometrického detektoru nastaveného na vlnovou délku 361 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se 100  $\mu$ l zkoušeného roztoku a zaznamená se chromatogram po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času kyanokobalaminu. Z plochy píku se vypočítá procentuální obsah kobaltu-58 přítomného jako kyanokobalamin. Nastříkne se 100  $\mu$ l porovnávacího roztoku. Chromatogram porovnávacího roztoku se zaznamenává po dobu 30 min.

**Rozpadavost.** Tobolky vyhovují zkoušce na rozpadavost tablet a tobolek (2.9.1) s tím rozdílem, že se použije jedna tobolka namísto šesti.

**Obsahová stejnosměrnost.** Měří se jednotlivě radioaktivita nejméně deseti tobolek za použití vhodného zařízení za stejných geometrických podmínek. Vypočítá se průměrná radioaktivita na tobolku. Radioaktivita žádné tobolky se neliší o více než  $\pm 10$  % od průměru. Relativní směrodatná odchylka je menší než 3,5 %.

### Stanovení radioaktivity

Průměrná radioaktivita zjištěná ve zkoušce Obsahová stejnosměrnost je 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity kobaltu-58 k referenčnímu datu uvedenému v označení.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem při teplotě 2 °C až 8 °C za podmínek uvedených v článku *Radiofarmaca*.

### Označování

Viz článek *Radiofarmaca*.

“

235. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.3 Radiofarmaceutické přípravky se za článek *Iobequani* ( $^{131}\text{I}$ ) *solutio iniectionis ad usum therapeuticum* zařazuje článek *Kryptonum* ( $^{81\text{m}}\text{Kr}$ ) *ad inhalationem*, který zní:

”

## Kryptonum ( $^{81\text{m}}\text{Kr}$ ) ad inhalationem

Krypton ( $^{81\text{m}}\text{Kr}$ ) plyn k inhalaci



2001

Je to směs kryptonu-81m a vhodného vehikula, jako je vzduch.

Krypton-81m vzniká přeměnou jeho mateřského radionuklidu rubidia-81. Rubidium-81 má poločas přeměny 4,58 h.

Vznikající krypton-81m se separuje z rubidia-81 průtokem vhodného plynu v rubidium/kryptonovém generátoru. Rubidium-81 se získává ozařováním izotopů kryptonu protony nebo ozařováním bromu heliem-3 nebo heliem-4. Po separaci z terče se rubidium-81 zachycuje na vhodný nosič.

Krypton-81m se eluuje vhodnou průtokovou rychlostí vehikulem, jako je vzduch. Hladina vlhkosti požadovaná v eluentu závisí na typu použitého generátoru. Transportní hadice pro podání má definovanou délku a vnitřní průměr. Radioaktivní koncentrace se určí před podáním.

Radioaktivita připadající na jiné radionuklidy, než je krypton-81m, vyjádřená jako procento celkové radioaktivity přípravku a vypočtená k datu a době podání, není větší než 0,1 %.

## Vlastnosti

Čirý bezbarvý plyn.

Krypton-81m má poločas přeměny 13,1 s a vysílá záření gama.

## Zkoušky totožnosti

A. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama a rtg záření způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Foton gama kryptonu-81m má energii 0,190 MeV.

B. Poločas přeměny stanovený způsobem popsáním v článku *Radiofarmaca* je 11,8 až 14,4 s.

## Zkoušky na čistotu

### Radionuklidová čistota

Generátor se eluuje podle návodu. Dostatečné množství eluátu (2 l až 10 l) o vhodné průtokové rychlosti proteče do vhodného absorbátoru, jako je voda. Stanoví se množství eluované radioaktivity. Krypton-81m se nechá přeměňovat 5 min a zaznamená se spektrum záření gama a rtg záření zbytkové radioaktivity v absorbátoru za použití vhodného zařízení způsobem popsáním v článku *Radiofarmaca*. Hodnotí se spektrum záření gama a rtg záření v absorbátoru na přítomnost radioaktivních nečistot, které se musí identifikovat a stanovit. Absorbovaná radioaktivita, která protekla do absorbátoru není větší než 0,1 % radioaktivity, vypočtené k referenčnímu datu a době podání.

### Stanovení radioaktivity

Za použití vhodného zařízení, jako je ionizační komora nebo spektrometr gama se stanoví radioaktivní koncentrace přípravku, způsobem popsáním v článku *Radiofarmaca*. Měřicí zařízení může být kalibrováno porovnáním s primárně ověřeným zařízením podle laboratoře stanovené oprávněnou autoritou. Radioaktivita se měří za definovaných pracovních podmínek, jako je průtoková rychlost a geometrie měření, a tyto jsou shodné s těmi, které byly použity pro kalibraci přístroje.

### Uchovávání

Viz článek *Radiofarmaca*.

### Označování

Viz článek *Radiofarmaca*.

236. V příloze název části 7 zní:

”

### Speciální dodatky I

“

237. V příloze se doplňuje část 8, která zní:

”

### Speciální dodatky II

1. V kapitole **2.2.33 Nukleární magnetická rezonanční spektrometrie** se text 14. řádku „... ethylbenzenu *R* v tetrachlormethanu *R* ...“ nahrazuje textem „... ethylbenzenu *R* v deuterizovaném chloroformu *R* ...“ a text 21. řádku zdola „... v tetrachlormethanu *R* ...“ se nahrazuje textem „... v deuterizovaném chloroformu *R* ...“.
2. V kapitole **2.4.22 Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií** se v textu 1. a 2. řádku vypouští věta „Pokud není v příslušném článku uvedeno jinak, použije se metoda A.“
3. V kapitole **2.7.2 Mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik** se text řádku Bacitracinum zincicum, 5. sloupce **Tab. 2.7.2-1** „*Micrococcus flavus*“ nahrazuje textem „*Micrococcus luteus*“, text v 1. sloupci **Tab. 2.7.2-1** „Erytromycinu stearas“ se zrušuje, text řádku Tylosinum a.u.v., 5. sloupce **Tab. 2.7.2-1** „*Micrococcus flavus*“ se nahrazuje textem „*Micrococcus luteus*“, text řádku Gramicidinum, 5. sloupce **Tab. 2.7.2-2** „*Streptococcus faecalis*“ se nahrazuje textem „*Enterococcus hirae* CIP 58.55“ a text 16. řádku odstavce **Příprava inokula**. „...*Micrococcus flavus*...“ se nahrazuje textem „...*Micrococcus luteus*...“.
4. V kapitole **2.7.4 Stanovení účinnosti krevního koagulačního faktoru VIII** se text posledního řádku kapitoly „... metodami pro stanovení poměru sklonů (např. ...)“ nahrazuje textem „... metodami (např. ...)“.
5. V kapitole **2.8.12 Stanovení silic v rostlinných drogách** se text 2. strany kapitoly, 18. řádek „... přepočítá na obsah mililitrů ve 100 g ...“ nahrazuje textem „... přepočítá na obsah mililitrů v kilogramu ...“.
6. V kapitole **2.9.15 Zdánlivý objem** se text obrázku 2.9.15-1 „...není menší než 335 mm ...“ nahrazuje textem „...není větší než 335 mm ...“.
7. V kapitole **3.1.1.1 Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu pro obaly na lidskou krev a krevní složky** se text 5. řádku odstavce **Přísady** „... zinkium-oktanoatu ...“ nahrazuje textem „... zink-oktanoatu ...“.
8. V kapitole **3.1.10 Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu pro obaly na neinjekční vodné roztoky** se text 1. řádku odstavce **Cínem nestabilizované materiály** „... Nejvýše 160 µg/g cínu. ...“ nahrazuje textem „... Nejvýše 25 µg/g cínu. ...“.

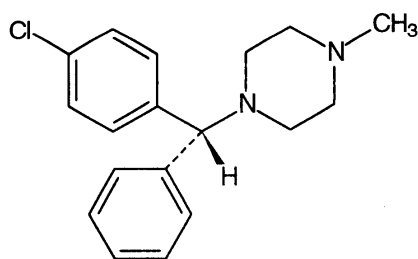
9. V kapitole 3.1.11 **Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu pro obaly na suché lékové formy k perorálnímu podání** se text 1. řádku zdola odstavce **Cínem nestabilizované materiály** „... Nejvýše 160 µg/g cínu. ...“ nahrazuje textem „... Nejvýše 25 µg/g cínu. ...“.
10. V kapitole 3.1.13 **Přísady polymerů** se text 1. až 4. řádku pod strukturním vzorcem odstavce **PP 02 „zinkium-di[(2RS)-2-ethylhexanoat]**
- synonyma:* **zinkium-oktanoat**  
zinečnatá sůl kyseliny 2-ethylhexanové  
zinkium-di(2-ethylkapronat)“
- nahrazuje textem „zink-di[(2RS)-2-ethylhexanoat]
- synonyma:* **zink-oktanoat**  
zinečnatá sůl kyseliny 2-ethylhexanové  
zink-di(2-ethylkapronat)“.
11. V **Tabulce III: Separanda** se v 1. řádku 2. sloupce vypouští slovo „Silymarinum“.
12. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Acidum ascorbicum** se text 1. řádku odstavce **Kyselina šťavelová** „Nejvýše 0,2 %.“ nahrazuje textem „Nejvýše 0,3 %.“.
13. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Acidum asparticum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml.“.
14. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Acidum glutamicum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml.“.
15. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Acidum methacrylicum et ethylis acrylas polymerisatum 1 : 1 dispersio 30%** se text 3. řádku odstavce **Ethylakrylat a kyselina methakrylová** „*Zkoušený roztok*. ... a přidá se 25,0 ml vody R.“ nahrazuje textem „*Zkoušený roztok*. ... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“, text 4. řádku odstavce **Ethylakrylat a kyselina methakrylová** „*Kontrolní roztok*. ... a přidá se 25,0 ml vody R.“ se nahrazuje textem „*Kontrolní roztok*. ... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“ a text 7. řádku odstavce **Ethylakrylat a kyselina methakrylová** „... a přidá se 25,0 ml vody R.“ se nahrazuje textem „... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“.
16. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Acidum methacrylicum et ethylis acrylas polymerisatum 1 : 1** se text 3. řádku odstavce **Ethylakrylat a kyselina methakrylová** „*Zkoušený roztok*. ... a přidá se 25,0 ml vody R.“ nahrazuje textem „*Zkoušený roztok*. ... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“, text 4. řádku odstavce **Ethylakrylat a kyselina methakrylová** „*Kontrolní roztok*. ... a přidá se 25,0 ml vody R.“ se nahrazuje textem „*Kontrolní roztok*. ... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“ a text 7. řádku odstavce **Ethylakrylat a kyselina methakrylová** „... a přidá se 25,0 ml vody R.“ se nahrazuje textem „... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“.
17. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Acidum methacrylicum et methylis methacrylas polymerisatum 1 : 1** se text 3. řádku odstavce **Methylthylakrylat a kyselina methakrylová** „*Zkoušený roztok*. ... a přidá se 25,0 ml vody R.“ nahrazuje textem „*Zkoušený roztok*. ... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“, text 4. řádku odstavce **Methylthylakrylat a kyselina methakrylová** „*Kontrolní roztok*. ... a přidá se 25,0 ml vody R.“ se nahrazuje textem „*Kontrolní roztok*. ... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“ a text 7. řádku odstavce **Methylthylakrylat a kyselina methakrylová** „... a přidá se 25,0 ml vody R.“ se nahrazuje textem „... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“.
18. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Acidum methacrylicum et methylis methacrylas polymerisatum 1 : 2** se text 1. řádku odstavce **Methylthylakrylat a kyselina methakrylová** „*Zkoušený roztok*. ... a přidá se 25,0 ml vody R.“ nahrazuje textem „*Zkoušený roztok*. ... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“, text 2. řádku odstavce **Methylthylakrylat a kyselina methakrylová** „*Kontrolní roztok*. ... a přidá se 25,0 ml vody R.“ se nahrazuje textem

tem „*Kontrolní roztok*. ... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“ a text 5. řádku odstavce **Methylthylakrylat a kyselina methakrylová** „... a přidá se 25,0 ml *vody R*.“ se nahrazuje textem „... a přidá se 25,0 ml mobilní fáze.“.

19. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Alaninum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního *roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml*.“.
20. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Alcohol cetylstearylicus** se text 2. řádku odstavce **Vzhled roztoku** „... než porovnávací barevný roztok *Ž<sub>6</sub>* ...“ nahrazuje textem „... než porovnávací barevný roztok *H<sub>6</sub>* ...“.
21. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Ammonii chloridum** se text odstavce **Zkoušky totožnosti B** „Vyhovuje zkoušce na amonné soli ...“ nahrazuje textem „10 ml roztoku S (viz Zkoušky na čistotu) vyhovuje zkoušce na amonné soli ...“.
22. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Amoxicillinum natricum** se text 2. řádku odstavce **Bakteriální endotoxiny** „... 0,25 m.j./mg.“ nahrazuje textem „... 0,25 m.j./mg amoxicilinu.“.
23. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Amoxicillinum trihydricum** se odstavec **Dimethylanilin** nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
24. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Ampicillinum** se odstavec **Dimethylanilin** nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
25. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Ampicillinum natricum** se text 3. a 4. řádku odstavce **Výroba „Kyselina 2-ethylhexanová**. Nejvýše 0,8 %; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.“ nahrazuje textem „**Kyselina 2-ethylhexanová** (2.4.28). Nejvýše 0,8 %.“ a odstavec **Dimethylanilin** se nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
26. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Ampicillinum trihydricum** se odstavec **Dimethylanilin** nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
27. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Arachidis oleum** se text 1. a 2. řádku odstavce „**Cizí mastné oleje**. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „**Podíl mastných kyselin** (2.4.22, *Metoda A*). ...“.
28. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Arachidis oleum hydrogenatum** se text odstavce **Zkoušky totožnosti C** „Zkouška Cizí mastné oleje, viz zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.“ nahrazuje textem „Zkouška Podíl mastných kyselin, viz zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.“ a text 1. řádku odstavce „**Cizí mastné oleje**. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22).“ se nahrazuje textem „**Podíl mastných kyselin** (2.4.22, *Metoda A*).“.
29. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Arginini hydrochloridum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního *roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml*.“.
30. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Argininum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního *roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml*.“.
31. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Bacitracinum** se text 1. řádku odstavce **Uchovávání** „... při teplotě 8 °C až 15 °C. ...“ nahrazuje textem „... při teplotě 2 °C až 8 °C. ...“.

32. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Benzocainum**, číslo CAS „9-09-74“ se nahrazuje číslem „94-09-7“.
33. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Betadexum** se text 3. a 4. řádku odstavce **Zbytková rozpouštědla, Zkoušený roztok** „... Do třech z těchto nádobek se odděleně přidá po 1 ml každého z porovnávacích roztoků. Potom se ...“ nahrazuje textem „... Přidá se po 1 ml porovnávacích roztoků (a), (b), (c) a (d) a potom se ...“ a text 1. a 2. řádku odstavce **Zbytková rozpouštědla, Porovnávací roztoky** „Připraví se roztoky obsahující v 1000 ml 5 µl, 10 µl a 15 µl *trichlorethylenu R* a *toluenu R* a 10 µl *dichlorethanu R*.“ se nahrazuje textem „Připraví se porovnávací roztok (a) obsahující 10 µl *dichlorethanu R* v 1000 ml. Z porovnávacího roztoku (a) se připraví porovnávací roztoky (b), (c) a (d), obsahující 5 µl, 10 µl a 15 µl *trichlorethylenu R* a *toluenu R* v 1000 ml.“.
34. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Carbenicillinum natricum** se text 3. a 4. řádku odstavce **Výroba „Kyselina 2-ethylhexanová**. Nejvýše 0,5 %; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.“ nahrazuje textem „**Kyselina 2-ethylhexanová** (2.4.28). Nejvýše 0,5 %.“.
35. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky se na str. 3 článku **Carbomera** text 11. řádku „... aby vznikla homogenní suspenze“ nahrazuje textem „... aby vznikla homogenní disperze.“.
36. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v odstavci **Cefaclorum** se text **Názvu nečistoty E** „... kyselina 2-[(2*R*)-2-amino-2-fenylacetamido]-2-(5-chlor-3,4-dihydro-2*H*-1,3-thiazin-2-yl)octová“ nahrazuje textem „... kyselina 2-[(2*R*)-2-amino-2-fenylacetamido]-2-(5-chlor-4-oxo-3,4-dihydro-2*H*-1,3-thiazin-2-yl)octová“.
37. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Cefadroxilum** se odstavec **Dimethylanilin** nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
38. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Cefalexinum monohydricum** se odstavec **Dimethylanilin** nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
39. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Cefamandoli nafas** se text 3. řádku odstavce **Bakteriální endotoxiny** „... 0,15 m.j. endotoxinu v miligramu.“ nahrazuje textem „... 0,15 m.j./mg cefamandolu.“.
40. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Cefazolinum natricum** se odstavec **Dimethylanilin** nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
41. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Cefotaximum natricum** se text 3. a 4. řádku odstavce **Výroba „Kyselina 2-ethylhexanová**. Nejvýše 0,5 %; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.“ nahrazuje textem „**Kyselina 2-ethylhexanová** (2.4.28). Nejvýše 0,5 %.“ a odstavec **Dimethylanilin** se nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
42. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Cefradinum** se odstavec **Dimethylanilin** nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
43. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Cefuroximium axetili** se text **Názvu nečistoty B** „... (1*RS*)-1-(acetoxy)ethyl-(6*R*,7*R*)-7-[(*E*)-2-(2-furyl)-2-(methoxy-imino)acetamido-3-[(karbamoyloxy)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-3-en-2-karboxylat ((*E*)-izomery)“ nahrazuje textem „... (1*RS*)-1-(acetoxy)ethyl-(6*R*,7*R*)-7-[(*E*)-2-(2-furyl)-2-(methoxy-imino)acetamido-3-[(karbamoyloxy)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylat ((*E*)-izomery)“.
44. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Chlorcyclizini hydrochloridum** se vzorec nahrazuje vzorcem

”



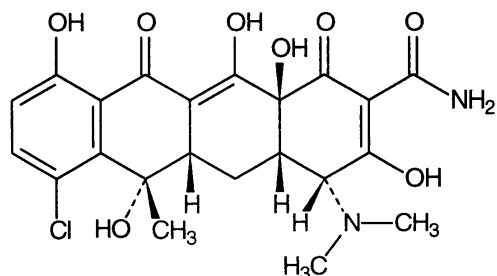
HCl a enantiomer

“

a text 2. řádku odstavce **Zkoušky totožnosti A** „... se zředí roztokem *kyseliny sírové R* (0,5 g/l) ...“ se nahrazuje textem „... se zředí roztokem *kyseliny sírové R* (5 g/l) ...“.

45. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Chlorhexidini digluconatis solutio** se text 3. řádku odstavce **Zkoušky totožnosti B** „*Porovnávací roztok. 25 mg kalciumdiglucuronatu CRL se ...*“ nahrazuje textem „*Porovnávací roztok. 25 mg kalciumglukonatu CRL se ...*“.
46. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Chlortetracyclini hydrochloridum** se odstavec **Nečistota A**, 4-epichlortetracyklin, doplňuje vzorcem

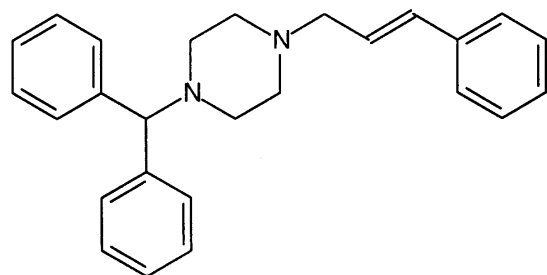
”



“

47. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Cinnarizinum** se za název látky doplňuje vzorec

”

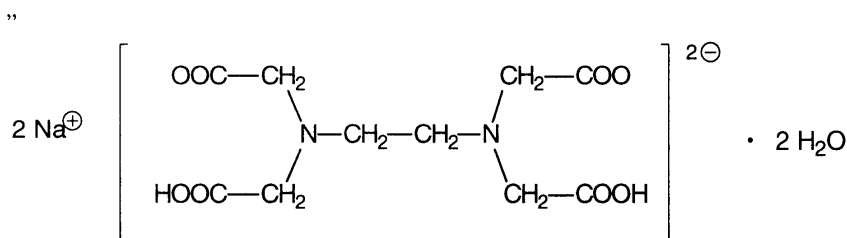


“

48. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Cloxacillinum natricum** se text 3. a 4. řádku odstavce **Výroba** „*Kyselina 2-ethylhexanová. Nejvýše 0,8 %; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.*“ nahrazuje textem „*Kyselina 2-ethylhexanová (2.4.28). Nejvýše 0,8 %.*“ a odstavec **Dimethylanilin** se nahrazuje textem „*N,N-Dimethylanilin (2.4.26, Metoda B). Nejvýše 20 µg/g.*“.
49. V kapitole 6.1 **Léčivé a pomocné látky** v článku **Crataegi folium cum flore** se text 11. řádku zdola odstavce **C** „... Po asi 30 min se pozoruje v denním světle. ...“ nahrazuje textem „... Po asi 30 min se pozoruje v ultrafialovém světle. ...“.



50. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Curcumae xanthorrhizae rhizoma** v odstavci **Dicinnamoylmethanové deriváty** se vzorec „ $\frac{A \cdot 0,46}{m}$ “ nahrazuje vzorcem „ $\frac{A \cdot 0,426}{m}$ “.
51. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Cysteini hydrochloridum monohydricum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml.“.
52. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Decylis oleas** se text 1. a 2. řádku odstavce **Obsah kyseliny olejové** „Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, Metoda A). ...“.
53. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Detomidini hydrochloridum ad usum veterinarium** se text 1. řádku odstavce **Uchovávání** „V dobře uzavřených obalech, chráněn před vlhkostí.“ nahrazuje textem „Ve vzduchotěsných obalech.“.
54. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Dexpanthenolum** se text 2. řádku odstavce **3-Aminopropanol** „Zkoušený roztok (a). 0,25 g se rozpustí v methanolu R ...“ nahrazuje textem „Zkoušený roztok (a). 0,25 g se rozpustí v ethanolu R ...“, text 3. řádku odstavce **3-Aminopropanol** „Zkoušený roztok (b). ... se zředí methanolem R ...“ se nahrazuje textem „Zkoušený roztok (b). ... se zředí ethanolom R ...“, text 4. řádku odstavce **3-Aminopropanol** „Porovnávací roztok (a). ... se rozpustí v methanolu R ...“ se nahrazuje textem „Porovnávací roztok (a). ... se rozpustí v ethanolu R ...“ a text 6. řádku odstavce **3-Aminopropanol** „Porovnávací roztok (b). ... se rozpustí v methanolu R ...“ se nahrazuje textem „Porovnávací roztok (b). ... se rozpustí v ethanolu R ...“.
55. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Dicloxacillinum natricum** se text 3. a 4. řádku odstavce **Výroba** „**Kyselina 2-ethylhexanová**. Nejvýše 0,8 %; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.“ nahrazuje textem „**Kyselina 2-ethylhexanová** (2.4.28). Nejvýše 0,8 %.“ a odstavec **Dimethylanilin** se nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, Metoda B). Nejvýše 20 µg/g.“.
56. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Dinatrii edetas dihydricus** se vzorec nahrazuje vzorcem:



57. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Ethylis oleas** se text 1. a 2. řádku zdola odstavce **Obsah kyseliny olejové** „Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, Metoda A). ...“.
58. V kapitole 6.1 Léčivé a pomocné látky v článku **Fenbendazolum** se tabulka nahrazuje tabulkou

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 – 10	100 → 0	0 → 100	lineární gradient
10 – 40	0	100	izokraticky
40 – 50	0 → 100	100 → 0	ustalování

59. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Ferrosi fumaras** se text 2. řádku pod strukturním vzorcem „... ferrium(II)-...“ nahrazuje textem „... ferrum(II)-...“.
60. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Ferrosi gluconas** se text 4. řádku odstavce **Stanovení obsahu** „... vzniku červeného zbarvení.“ nahrazuje textem „... vymizení červeného zbarvení.“.
61. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Ferrosi sulfas** se text 4. řádku odstavce **Stanovení obsahu** „... vzniku červeného zbarvení.“ nahrazuje textem „... vymizení červeného zbarvení.“.
62. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Flucloxacillinum natricum** se text 3. a 4. řádku odstavce **Výroba** „**Kyselina 2-ethylhexanová**. Nejvýše 0,8 %; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.“ nahrazuje textem „**Kyselina 2-ethylhexanová** (2.4.28). Nejvýše 0,8 %.“  
odstavec **Dimethylanilin** se nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
63. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Fosfomycinum trometamoli** se text 1. řádku odstavce **Uchování** „Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před vlhkostí.“ nahrazuje textem „Ve vzduchotěsných obalech.“.
64. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Fucus** se text 1. řádku odstavce **Celkový jod** „... 1,00 g práškované drogy ...“ nahrazuje textem „... 1,000 g práškované drogy ...“.
65. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Gentamicini sulfas** se text 3. řádku odstavce **Zkoušky totožnosti B** „*Porovnávací roztok*. 25 mg *gentamiciniumsulfatu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 5 ml.“ nahrazuje textem „*Porovnávací roztok*. Obsah lahvičky *gentamiciniumsulfatu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na koncentraci 5,0 mg/ml.“,  
text 6. a 7. řádku odstavce **Složení**: „*Porovnávací roztok*. Připraví se stejně jako zkoušený roztok, místo zkoušené látky se použije *gentamiciniumsulfat CRL*.“ se nahrazuje textem „*Porovnávací roztok*. Obsah lahvičky *gentamiciniumsulfatu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na koncentraci 1,0 mg/ml. Dále se postupuje jako u zkoušeného roztoku.“.
66. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Glucagonum** se text 14. řádku odstavce **Příbuzné látky** „*Porovnávací roztok (a)*. Množství *glukagonu BRP* ...“ nahrazuje textem „*Porovnávací roztok (a)*. Množství *glukagonu CRL* ...“.
67. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Glucosum liquidum** se text 1. řádku odstavce **Ztráta sušením** „... 1,000 g se smíchá se 3 g *křemeliny R* ...“ nahrazuje textem „... 1,000 g se smíchá se 3,000 g *křemeliny G R* ...“.
68. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Glutethimidum** se text 3. řádku odstavce **Stanovení obsahu** „... za použití indikační stříbrné elektrody a srovnávací argentchloridové elektrody.“ nahrazuje textem „... za použití argente-argentchloridové srovnávací elektrody.“.
69. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Glyceromacrogoli caprylocapras** se text 1. řádku odstavce **Podíl mastných kyselin** „Provede se plynová chromatografie (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, *Metoda A*). ...“.
70. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Glyceromacrogoli lauras** se text 1. řádku odstavce **Podíl mastných kyselin** „Provede se plynová chromatografie (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, *Metoda A*). ...“.
71. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Glyceromacrogoli linoleas** se text 1. řádku odstavce **Podíl mastných kyselin** „Provede se plynová chromatografie (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, *Metoda A*). ...“.
72. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Glyceromacrogoli oleas** se text 1. řádku odstavce **Podíl mastných kyselin** „Provede se plynová chromatografie (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, *Metoda A*). ...“.

73. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Glyceromacrogoli stearas** se text 1. řádku odstavce **Podíl mastných kyselin** „Provede se plynová chromatografie (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, *Metoda A*). ...“.
74. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Gonadorelini acetat** se text 6. řádku odstavce **Aminokyseliny** „kyselina aspartová“ nahrazuje textem „kyselina asparagová“.
75. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Gossypii oleum hydrogenatum** se text 1. řádku zdola odstavce **Zkoušky totožnosti B** „Zkouška Cizí mastné oleje, viz zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.“ nahrazuje textem „Zkouška Podíl mastných kyselin, viz zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.“, a 1. a 2. řádek odstavce „**Cizí mastné oleje**. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). ...“ se nahrazuje textem „**Podíl mastných kyselin** (2.4.22, *Metoda A*). ...“.
76. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Haloperidolum** se text 1. řádku odstavce **Příbuzné látky** „Provede se kapalinová chromatografie ...“ nahrazuje textem „*Roztoky se připravují těsně před použitím a za chránění před světlem*. Provede se kapalinová chromatografie ...“.
77. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Helianthi oleum raffinatum** se text 1. a 2. řádku odstavce **Podíl mastných kyselin** „Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, *Metoda A*). ...“.
78. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Histidini hydrochloridum monohydricum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml.“.
79. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Histidinum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml.“.
80. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Interferoni alfa-2 solutio concentrata** se text 4. řádku odstavce **Zkoušky na čistotu** „... Použije se *SDS-PAGE koncentrovaný roztok pro vzorek RS*.“ nahrazuje textem „... Smíchají se stejné objemové díly *vody R* a *SDS-PAGE koncentrovaného roztoku pro vzorek RS*.“, text 5. a 6. řádku odstavce **Zkoušky na čistotu** „... Použije se *SDS-PAGE koncentrovaný roztok pro redukující podmínky RS* ...“ se nahrazuje textem „... Smíchají se stejné objemové díly *vody R* a *SDS-PAGE koncentrovaného roztoku pro vzorek pro redukující podmínky RS* ...“ a text 8. a 9. řádku odstavce **Bílkovina** „...přidá 0,25 ml v ten den připraveného *zkoumadla fosfomolybdenan-wolframového R* a ...“ se nahrazuje textem „...přidá 0,25 ml směsi stejných objemových dílů *vody R* a *zkoumadla fosfomolybdenan-wolframového R* a ...“.
81. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Isoleucinum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml.“.
82. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Kalii acetat** se text odstavce **Uchovávání** „V dobře uzavřených obalech, chráněn před vlhkostí.“ nahrazuje textem „Ve vzduchotěsných obalech.“.
83. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Lacca** se text odstavce **Těžké kovy** doplňuje o větu „K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).“.
84. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Leucinum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml.“.

85. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Leuprorelinum** se odstavec **Kyselina octová** nahrazuje textem „**Kyselina octová** (2.5.34). 4,7 % až 9,0 %. *Zkoušený roztok*. 10,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (5 : 95) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.“.
86. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Lysini hydrochloridum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku *amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml*.“.
87. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Maydis oleum raffinatum** se text 1. řádku odstavce **Podíl mastných kyselin**. „Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, *Metoda A*). ...“.
88. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Methylrosanilini chloridum** se text 3. řádku odstavce **Látky nerozpustné v lihu** „... se promývají horkou *vodou R* ...“ nahrazuje textem „... se promývají horkým *lihem 96% R* ...“.
89. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Minocyclini hydrochloridum** se text 1. a 2. řádku odstavce **B** „... K roztoku se přidá 2,5 ml *vody R* ...“ nahrazuje textem „... Roztok se opatrně přidá do 2,5 ml *vody R* ...“.
90. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Natrii amidotrizoas** se text 1. řádku odstavce **Příbuzné látky** „... za použití vrstvy *silikagelu GF<sub>254</sub> R*.“ nahrazuje textem „... za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.“.
91. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Natrii cyclamas** se text 2. řádku pod tabulkou „... následující: tetradekan asi 1,4, dicyklohexylamin asi 4,3, a anilin asi 4,5.“ nahrazuje textem „... následující: anilin asi 1,4, tetradekan asi 4,3, a dicyklohexylamin asi 4,5.“.
92. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Natrii hyaluronas** se text 7. až 10. řádku odstavce **Bílkoviny** „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. ...“ nahrazuje textem „Přidá se 2,5 ml čerstvě připraveného *vinanu měďnatého RS3* do zkumavek obsahujících 2,5 ml *vody R* (kontrolní roztok), 2,5 ml zkoušených roztoků (a) nebo (b) nebo 2,5 ml porovnávacích roztoků. Po každém přidání se zamíchá. Po asi 10 min se do každé zkumavky přidá 0,50 ml směsi stejných objemových dílů *vody R* a *zkoumadla fosfomolybdenan-wolframového R*. ...“ a text 8. řádku odstavce **Označování** „... zda je látka vhodná pro oční použití.“ se nahrazuje textem „... zda je látka vhodná pro nitrooční podání.“.
93. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Natrii octanoas** se text 10. řádku „... při průtokové rychlosti 15 ml/min, ...“ nahrazuje textem „... při průtokové rychlosti 1,5 ml/min, ...“.
94. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Neomycini sulfas** se text 1. a 2. řádku odstavce **Stanovení účinnosti** „... za použití *neomyciniumsulfatu CRL* ...“ nahrazuje textem „... za použití *neomyciniumsulfatu pro stanovení mikrobiologické účinnosti CRL* ...“.
95. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Netilmicini sulfas** se text 2. řádku odstavce **Sírany** „... Přidá se 10,0 ml *chloridu* ...“ nahrazuje textem „... Přidá se 30,0 ml *chloridu* ...“.
96. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Phenylalaninum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku *amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml*.“.

97. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Phenylpropanolamini hydrochloridum** se text 7. řádku odstavce **Příbuzné látky** „*Porovnávací roztok (c). 20 mg norpseudofedriniumchloridu R ...*“ nahrazuje textem „*Porovnávací roztok (c). 20 mg norpseudofedriniumchloridu CRL ...*“.
98. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Piperacillinum monohydricum** se odstavec **N,N-Dimethylanilin** nahrazuje textem „*N,N-Dimethylanilin (2.4.26, Metoda A). Nejvýše 20 µg/g.*“.
99. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Piperacillinum natricum** se odstavec **N,N-Dimethylanilin** nahrazuje textem „*N,N-Dimethylanilin (2.4.26, Metoda A). Nejvýše 20 µg/g.*“.
100. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Pivampicillinum** se odstavec **Dimethylanilin** nahrazuje textem „*N,N-Dimethylanilin (2.4.26, Metoda B). Nejvýše 20 µg/g.*“.
101. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Povidonum** se text 3. a 2. řádku zdola odstavce **Vinylpyrrolidonum** „... Po každém nástřiku zkoušeného roztoku se promývá předkolona mobilní fází stejnou zvolenou rychlostí pro zkoušku po dobu 30 min.“ nahrazuje textem „... Po každém nástřiku zkoušeného roztoku se předkolona 30 min promývá mobilní fází v obráceném směru stejnou průtokovou rychlostí jako ve zkoušce.“.
102. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Prazepamum** se text 7. řádku odstavce **Příbuzné látky** „*Porovnávací roztok (c). 15 mg nordazepamu nečistoty A CRL ...*“ nahrazuje textem „*Porovnávací roztok (c). 15 mg nordazepamu CRL ...*“ a text 11. řádku „... odpovídající nordazepamu nečistotě A ...“ se nahrazuje textem „... odpovídající nordazepamu ...“.
103. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Prednisoloni natrii phosphas** se text na 3. str. článku, 14. řádek „Citlivost systému se nastaví tak, aby ...“ nahrazuje textem „Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby ...“.
104. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Prolinum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „*Amonium (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml.*“.
105. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Qinidini sulfas dihydricus** se text 2. řádku odstavce **Vlastnosti** „... mírně rozpustný ve vroucí vodě ...“ nahrazuje textem „... snadno rozpustný ve vroucí vodě ...“ a text odstavce **Specifická optická otáčivost** „-237° až -245°, ...“ se nahrazuje textem „+275° až +290°, ...“.
106. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Rapae oleum raffinatum** se text 1. a 2. řádku odstavce **Podíl mastných kyselin** „Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, Metoda A). ...“.
107. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Rhamni purshianae cortex** se text na 4. str. článku, 1. řádek „Obsah hydroxyantracenových glykosidů, ...“ nahrazuje textem „Obsah kaskarosidů, ...“.
108. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Selenii disulfidum** se text 1. řádku odstavce **Zkoušky totožnosti B** „... zfiltruje přes *křemelínu H R* ...“ nahrazuje textem „... zfiltruje přes *křemelínu pro chromatografii R* ...“.
109. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Serinum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „*Amonium (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml.*“.
110. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Silymarinum** se název „† **Silymarinum**“ nahrazuje názvem „**Silymarinum**“ a z textu 2. řádku odstavce **Uchovávání** se vypouští slovo „Separandum.“.

111. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Sojae oleum hydrogenatum** se text odstavce **Zkoušky totožnosti B** „Zkouška Cizí masné oleje, viz zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.“ nahrazuje textem „Zkouška Podíl mastných kyselin, viz zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.“ a text 1. a 2. řádku odstavce „**Cizí masné oleje**. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22).“ se nahrazuje textem: „**Podíl mastných kyselin** (2.4.22, *Metoda A*).“.
112. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Streptomycini sulfas** se text 1. řádku odstavce **Uchovávání** „Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před vlhkostí. ...“ nahrazuje textem „Ve vzduchotěsných obalech. ...“.
113. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Sulfur ad usum externum** se text 3. řádku odstavce **Kysele nebo zásaditě reagující látky** „...*kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS* ...“ nahrazuje textem „...*kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* ...“.
114. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Ticarcillinum natricum** se text 3. a 4. řádku odstavce **Výroba** „**Kyselina 2-ethylhexanová**. Nejvýše 0,5 %; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.“ nahrazuje textem „**Kyselina 2-ethylhexanová** (2.4.28). Nejvýše 0,5 %.“ a odstavec **Dimethylanilin** se nahrazuje textem „**N,N-Dimethylanilin** (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.“.
115. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Triethylis citras** se text 8. řádku odstavce **Příbuzné látky** „... jako nosného plynu s dělicím poměrem 50 : 1 a ...“ nahrazuje textem „... jako nosného plynu s dělicím poměrem 1 : 50 a ...“.
116. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Triglycerida saturata media** se text 1. a 2. řádku odstavce „**Složení mastných kyselin**. Provede se zkouška na Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22).“ nahrazuje textem „**Podíl mastných kyselin** (2.4.22, *Metoda C*).“.
117. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Tritici oleum raffinatum** se text 1. a 2. řádku odstavce „**Podíl mastných kyselin**. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). ...“ nahrazuje textem „(2.4.22, *Metoda C*).“.
118. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Valinum** se odstavec **Amonium** nahrazuje textem „**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,1 ml základního roztoku amonia 100 µg NH<sub>4</sub>/ml.“.
119. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Vinblastini sulfas** se text 12. řádku odstavce **Stanovení obsahu** „... mezi pumpu a injektor se umístí předkolona ...“ nahrazuje textem „... mezi nástřikový prostor a kolonu se umístí předkolona ...“.
120. V kapitole **6.1 Léčivé a pomocné látky** v článku **Vincristini sulfas** se text 12. řádku odstavce **Stanovení obsahu** „... mezi čerpadlo a nástřikový prostor se umístí předkolona ...“ nahrazuje textem „... mezi nástřikový prostor a kolonu se umístí předkolona ...“.
121. V kapitole **6.2 Léčivé přípravky** v článku **Cremor anionicus** se text 3. řádku odstavce **Stanovení obsahu** „... roztoku žlutě dimethylenové R ...“ nahrazuje textem „... roztoku žlutě dimethylové R ...“.
122. V kapitole **6.2 Léčivé přípravky** v článku **Immunoglobulinum humanum hepatitis A** se text 6. řádku odstavce **Stanovení účinnosti** „... vyhláší Světová zdravotnická organizace.“ nahrazuje textem „... vyhláší Světová zdravotnická organizace. Lidský imunoglobulin proti hepatitidě A BRP je kalibrován v mezinárodních jednotkách porovnáním s mezinárodním referenčním přípravkem lidského imunoglobulinu hepatitidy A.“.
123. V kapitole **6.2 Léčivé přípravky** v článku **Immunoglobulinum humanum normale** se text 5. řádku odstavce **Protilátky proti viru hepatitidy A** „... vyhláší Světová zdravotnická organizace.“ nahrazuje textem „... vyhla-

- šuje Světová zdravotnická organizace. Lidský imunoglobulin proti hepatidě A BRP je kalibrován v mezinárodních jednotkách porovnáním s mezinárodním referenčním přípravkem lidského imunoglobulinu hepatitidy A.“
124. V kapitole **6.2 Léčivé přípravky** v článku **Immunoglobulinum humanum tetanicum** se text 4. řádku „... zvláště imunoglobulin G.“ nahrazuje textem „... zvláště imunoglobulin G. Přípravek je určen pro intramuskulární podání.“.
125. V kapitole **6.2 Léčivé přípravky** v článku **Vaccinum meningococcale polysaccharidicum** se text na 3. str. článku, 7. řádek „... před dosažením distribučního koeficientu  $K_D$  ...“ nahrazuje textem „... před dosažením distribučního koeficientu  $K_0$  ...“ a text na 4. str. článku, 3. řádek „... se eluuje před  $K_D$  ...“ se nahrazuje textem „... se eluuje před  $K_0$  ...“, 4. řádek „... se eluuje před  $K_D$  ...“ se nahrazuje textem „... se eluuje před  $K_0$  ...“ a 7. řádek „... jestliže  $K_D$  ...“ se nahrazuje textem „... jestliže  $K_0$  ...“.
126. V kapitole **6.2 Léčivé přípravky** v článku **Vaccinum pneumococcale polysaccharidicum** se text záhlaví 6. Sloupce **Tab. 1** „Molekulová velikost  $K_D$ “ nahrazuje textem „Molekulová velikost  $K_0$ “.
127. V kapitole **6.2 Léčivé přípravky** v článku **Fludeoxyglucosi [ $^{18}\text{F}$ ] solutio iniectabilis** se text 9. řádku odstavce **Chemická čistota** „... 1,0 mg 2-chlor-2-deoxy-D-glukosy CRL se rozpustí ...“ nahrazuje textem „... 1,0 mg 2-chlor-2-deoxy-D-glukosy R se rozpustí ...“.

“

## Čl. II

Tato vyhláška nabývá účinnosti dnem 1. června 2002.

Ministr:

prof. MUDr. Fišer, CSc. v. r.



**Vydává a tiskne:** Tiskárna Ministerstva vnitra, p. o., Bartůnkova 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.: 00421 2 44 45 46 28, fax: 44 45 46 27. **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 2002 činí 3000,- Kč, druhá záloha na rok 2002 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:** Oldřich HAAGER, Masarykovo nám. 101; **Brno:** Knihkupectví M. Ženíška, Květinářská 1, Jiří Hrazdil, Cejl 76, SEVT, a. s., Česká 14, Knihkupectví JUDr. Oktavián Kocián, Příkop 6, tel.: 05/45 17 50 80; **Břeclav:** Prodejna tiskovin, 17. listopadu 410, tel.: 0627/322 132, fax: 0627/370 036; **České Budějovice:** PROSPEKTRUM, Kněžská 18, SEVT, a. s., Česká 3; **Hradec Králové:** TECHNOR, Wonkova 432; **Hrdějovice:** Ing. Jan Fau, Dlouhá 329; **Cheb:** EFREX, s. r. o., Karlova 31; **Chomutov:** DDD Knihkupectví – Antikvariát, Ruská 85; **Kadaň:** Knihařství – Příbřimská, J. Švermy 14; **Kladno:** eL VaN, Ke Stadionu 1953; **Klatovy:** Krameriovo knihkupectví, Klatovy 169/I.; **Liberec:** Podještědské knihkupectví, Moskevská 28; **Litoměřice:** Jaroslav Tvrdlík, Lidická 69, tel.: 0416/732135, fax: 0416/734875; **Most:** Knihkupectví Šeříková, Ilona Růžičková, Šeříková 529/1057, Knihkupectví „U Knihomila“, Ing. Romana Kopková, Moskevská 1999; **Náchod:** Olga Fašková, Kamenice 139, tel.: 0441/42 45 46; **Olomouc:** ANAG, spol. s r. o., Denisova č. 2, BONUM, Ostružnická 10, Tycho, Ostružnická 3; **Ostrava:** LIBREX, Nádražní 14, Profesio, Hollarova 14, SEVT, a. s., Nádražní 29; **Otrokovice:** Ing. Kučerič, Jungmannova 1165; **Pardubice:** LEJHANEČ, s. r. o., Sladkovského 414; **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, 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, spol. s r. o., nám. Míru 9 (Národní dům), BMSS START, s. r. o., Vinohradská 190, 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, Specializovaná prodejna Sbírky zákonů, Sokolovská 35, tel.: 02/24 81 35 48; **Praha 10:** Abonentní tiskový servis, Hájek 40, Uhříněves; **Prerov:** Knihkupectví EM-ZET, Bartošova 9; **Sokolov:** KAMA, Kalousek Milan, K. H. Borovského 22, tel.: 0168/303 402; **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, Kartoony, s. r. o., Solvayova 1597/3, Vazby a doplňování Sbírek zákonů včetně dopravy zdarma, tel.+fax: 047/5501773, www.kartoon.cz, e-mail: kartoon@kartoon.cz; **Zábřeh:** Knihkupectví PATKA, Žižkova 45; **Zátec:** Prodejna Ú 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 zařizování předplatného do jeho úhrady jsou doposílány jednorázově. Změny adres a počtu odebíraných výtisků jsou prováděny do 15 dnů. **Reklamace:** informace na tel. čísle 0627/305 168. V písemném styku vždy uvádějte IČO (právnícká osoba), rodné číslo (fyzická osoba). **Podávání novinových zásilek** povoleno Českou poštou, s. p., Odštěpný závod Jižní Morava Ředitelství v Brně č. j. P/2-4463/95 ze dne 8. 11. 1995.