



BOSNA I HERCEGOVINA
AGENCIJA ZA LIJEKOVE I MEDICINSKA SREDSTVA
БОСНА И ХЕРЦЕГОВИНА
АГЕНЦИЈА ЗА ЛИЈЕКОВЕ И МЕДИЦИНСКА СРЕДСТВА



Farmakopeja Bosne i Hercegovine

Nacionalni dodatak Evropskoj/Europskoj
farmakopeji

2022.

FARMAKOPEJA BOSNE I HERCEGOVINE

**NACIONALNI DODATAK EVROPSKOJ/ EUROPSKOJ
FARMAKOPEJI**

*Pharmacopoeia of Bosnia and Herzegovina
National Supplement to the European Pharmacopoeia*

Ovo izdanje predstavlja prevode Evropske farmakopeje izdanja 10.0 sa dodacima

Farmakopeja Bosne i Hercegovine

Nacionalni dodatak Evropskoj/Europskoj farmakopeji

Izdavač:

AGENCIJA ZA LIJEKOVE I MEDICINSKA SREDSTVA BOSNE I HERCEGOVINE
www.almbih.gov.ba

Za izdavača:

dr Aleksandar Zolak
mr sc. dr Dinka Muhović, spec.

Uredništvo:

Alija Uzunović, Ana Borić

Autori prevoda, adaptacije i pripreme teksta:

Alija Uzunović, Ana Borić, Irena Kasagić-Vujanović, Bojana Gojić, Jasminka Bešić-Kurteš, Dubravka Kovčić, Kemal Durić, Luka Semizović, Alma Kiso, Rada Amidžić, Mirsad Šabaredžović, Nataša Bubić Pajić, Elvira Kovač-Bešović, Azra Šolaja

Lektor:

Jezičke usluge Diwan” Društvo za pružanje jezičkih i drugih usluga, d.o.o. Sarajevo

Tehnička obrada:

Agencija Perfecta, Sarajevo

Tiraž:

100

CIP - Каталогизација у публикацији
Народна и универзитетска библиотека
Републике Српске, Бања Лука

615.11(497.6)

ФАРМАКОПЕЈА Босне и Херцеговине

Farmakopeja Bosne i Hercegovine : nacionalni dodatak
Evropskoj/ Europskoj farmakopeji = Pharmacopoeia of Bosnia and
Herzegovina : National Supplement to the European
Pharmacopoeia / [uredništvo Alija Uzunović, Ana Borić] ; [autori
prevoda, adaptacije i pripreme teksta Alija Uzunović ... [et al.]]. -
[Banja Luka] : Agencija za lijekove i medicinska sredstva Bosne i
Hercegovine, 2022 ([S. l. : s. n.]). - 216 стр. : табеле, граф. прикази
; 30 cm

Dostupno i na:

[http://www.almbih.gov.ba/_doc/farmakopeja/farmakopeja2022.p
df.](http://www.almbih.gov.ba/_doc/farmakopeja/farmakopeja2022.pdf) - "Ovo izdanje predstavlja prevode Evropske farmakopeje
izdanja 10.0 sa dodacima" --> насл. стр. - Тираж 100.

ISBN 978-99976-169-0-6

COBISS.RS-ID 137328897

SADRŽAJ

ISTORIJAT, MISIJA I VIZIJA	9
1. OPŠTE NAPOMENE	9
1.1. OPŠTI NAVODI	10
1.2. OSTALE ODREDBE KOJE SE PRIMJENJUJU NA MONOGRAFIJE I OPŠTA POGLAVLJA	13
1.3. OPŠTA POGLAVLJA	15
1.4. OPŠTE MONOGRAFIJE I OPŠTE MONOGRAFIJE FARMACEUTSKIH OBLIKA	15
1.5. POJEDINAČNE MONOGRAFIJE	16
1.6. REFERENTNI STANDARDI	21
1.7. SKRAĆENICE I SIMBOLI	21
1.8. JEDINICE MEĐUNARODNOG SISTEMA (SI) KOJE SE KORISTE U FARMAKOPEJI I NJIHOVA EKVIVALENTNOST SA DRUGIM JEDINICAMA	23
2. GENERALNA POGLAVLJA	29
2.2.1. BISTRINA I STEPEN OPALESCENCIJE TEKUĆINA	29
2.2.2. STEPEN OBOJENOSTI TEKUĆINA	30
2.2.3. POTENCIOMETRIJSKO ODREĐIVANJE PH	33
2.2.4. PRIBLIŽNA PH VRIJEDNOST OTOPINA	35
2.2.5. RELATIVNA GUSTOĆA	36
2.2.6. INDEKS REFRAKCIJE	37
2.2.25. APSORPCIONA SPEKTROFOTOMETRIJA, ULTRALJUBIČASTA I VIDLJIVA	37
2.2.27. HROMATOGRAFIJA NA TANKOM SLOJU (TLC)	44
2.2.29. TEČNA HROMATOGRAFIJA	47
2.2.30. EKSKLUZIONA HROMATOGRAFIJA	49
2.2.32. GUBITAK SUŠENJEM	51
2.2.46. HROMATOGRAFSKE SEPARACIONE TEHNIKE	51
2.5.1. KISELINSKI BROJ	64
2.5.2. ESTERSKI BROJ	65
2.5.3. HIDROKSILNI BROJ	65
2.5.4. JODNI BROJ	66
2.5.5. PEROKSIDNI BROJ	68
2.5.6. SAPONIFIKACIJSKI BROJ	69
2.5.11. KOMPLEKSOMETRIJSKE TITRACIJE	70
2.6.1. STERILNOST	71
2.6.12. MIKROBIOLOŠKO ISPITIVANJE NESTERILNIH PROIZVODA: TESTOVI BROJANJA MIKROORGANIZAMA	77
2.6.13. MIKROBIOLOŠKO ISPITIVANJE NESTERILNIH PROIZVODA: TEST ZA SPECIFIČNE MIKROORGANIZME	85

2.6.14. BAKTERIJSKI ENDOTOKSINI	95
2.8.2. STRANE PRIMJESE	103
2.8.4. BROJ BUBRENJA	104
2.8.8. MIRIS I OKUS ETERIČNIH ULJA	104
2.8.12. ETERIČNA ULJA U BILJNIM DROGAMA	104
2.8.14. TANINI U BILJNIM DROGAMA	106
2.8.15. INDEKS GORČINE	107
2.8.16. SUHI OSTATAK EKSTRAKATA	109
2.8.17. GUBITAK SUŠENJEM EKSTRAKATA	109
2.8.23. MIKROSKOPSKI PREGLED BILJNIH DROGA	109
2.9.1. RASPADLJIVOST TABLETA I KAPSULA	110
2.9.2. RASPADLJIVOST SUPOZITORIJA I VAGITORIJA	113
2.9.3. ISPITIVANJE BRZINE OSLOBAĐANJA ZA ČVRSTE FARMACEUTSKE OBLIKE (<i>DISSOLUTION TEST</i>)	115
2.9.40. UJEDNAČENOST DOZNIH JEDINICA	126
5.1.4. MIKROBIOLOŠKI KVALITET NESTERILNIH FARMACEUTSKIH PREPARATA I SUPSTANCI ZA FARMACEUTSKU UPOTREBU	130
5.1.9. VODIČ ZA ISPITIVANJE STERILNOSTI	132
5.17.1. PREPORUKE ZA TESTIRANJE BRZINE OSLOBAĐANJA	133
3. OPĆE I POJEDINAČNE MONOGRAFIJE	141
2034 SUPSTANCE ZA FARMACEUTSKU UPOTREBU	141
2619 FARMACEUTSKI PREPARATI	145
0008 VODA, PREČIŠĆENA	149
4. REAGENSI	157
5. DROGE (NAZIV I DEFINICIJE)	169
6. NEFARMAKOPEJSKI DODATAK	199
SMJERNICE DOBRE PRIPREME LIJEKOVA U APOTECI	199
ČAJNE MJEŠAVINE	212

ISTORIЈAT, MISIЈA I VIZIЈA

Agencija za lijekove i medicinska sredstva Bosne i Hercegovine osnovana je Zakonom o lijekovima i medicinskim sredstvima Bosne i Hercegovine („Službeni glasnik BiH, broj 58/08) kao ovlašteno tijelo odgovorno za oblast lijekova i medicinskih sredstava koji se proizvode i upotrebljavaju u medicini u Bosni i Hercegovini. Sa radom je započela 1. maj 2009. godine. Agencija je osnovana zbog zaštite i promocije zdravlja obezbjeđivanjem kvalitetnih, bezbjednih i efikasnih lijekova i medicinskih sredstava za upotrebu u humanoj medicini i uspostavljanja funkcionalnog, koordiniranog i jedinstvenog regulacionog sistema lijekova i medicinskih sredstava; uspostavljanja i nadzora jedinstvenog tržišta lijekova i medicinskih sredstava te njihove dostupnosti za teritoriju Bosne i Hercegovine; ostvarivanja saradnje i pružanja stručne pomoći nadležnim državnim i entitetskim ministarstvima ovlaštenim za poslove zdravstva pri oblikovanju, pripremanju prijedloga i sprovođenju nacionalne politike lijekova i medicinskih sredstava za upotrebu u humanoj medicini; predlaganja donošenja i izmjene zakonskih propisa iz oblasti lijekova i medicinskih sredstava te usaglašavanja propisa sa međunarodnim standardima.

Zakonom o lijekovima i medicinskim sredstvima Bosne i Hercegovine uspostavljena je i Komisija za farmakopeju kao tijelo Agencije nadležno za izradu i objavljivanje Nacionalnog dodatka farmakopeje – Farmakopeje Bosne i Hercegovine kao i praćenje razvoja Evropske farmakopeje. Komisija za farmakopeju ima sedam članova, od kojih entitetska ministarstva zdravstva predlažu po jednog člana, Odjel za zdravstvo i ostale usluge Vlade Brčko distrikta Bosne i Hercegovine jednog člana, farmaceutski fakulteti entiteta predlažu po jednog člana, a Kontrolna laboratorija Agencije dva člana.

U periodu od osnivanja Komisije za farmakopeju do danas imenovana su dva saziva koja su izvršavala poslove iz njene nadležnosti te obaveze predviđene međunarodnim aktima.

Članovi Komisije za farmakopeju u periodu od septembra 2011. do juna 2018. bili su:

Alma Kiso, mr. ph. spec., Rada Amidžić, mr. ph. spec., prim. Mirsad Šabaredžović, mr. ph., Nataša Bubić Pajić, mr. ph., dr. sci. Elvira Kovač-Bešović, mr. ph., Azra Šolaja, mr. ph., mr. sci. Alija Uzunović, mr. ph. spec., i Ana Borić, mr. ph., sekretarka Komisije.

Od juna 2018. godine imenovani su sljedeći članovi Komisije za farmakopeju:

prof. dr. Alija Uzunović, mr. ph. spec., doc. dr. Irena Kasagić-Vujanović, mr. ph. spec., Jasminka Bešić-Kurteš, mr. ph. (od 4. 2022. Dubravka Kovčić, mr. ph. spec.), prof. dr. Kemal Durić, mr. ph. spec., Bojana Gojić, mr. ph. spec., Luka Semizović, dipl. pravnik, i Ana Borić, mr. ph. spec., članica i sekretarka Komisije.

Svojim nesebičnim zalaganjem svi su članovi Komisije za farmakopeju neizmjereno doprinijeli izradi ovog materijala.

Evropska farmakopeja (Ph. Eur.) predstavlja jedinstvenu referencu za kontrolu kvaliteta lijekova u zemljama potpisnicama Konvencije o elaboraciji monografija Evropske farmakopeje. Evropska farmakopeja se priprema pod pokroviteljstvom Savjeta Evrope, u skladu sa Konvencijom o elaboraciji monografija Evropske farmakopeje iz 1964. godine (Evropska konvencija br. 50). Ona je izmijenjena i dopunjena Protokolom uz Konvenciju (Evropska konvencija br. 134), koji su potpisale vlade 39 država članica. Bosna i Hercegovina je ratifikovala potpis Konvencije 30. marta 1995. godine, čime je postala punopravna članica.

Članom 30. Zakona o lijekovima i medicinskim sredstvima u Bosni i Hercegovini, lijekovi koji su u prometu u Bosni i Hercegovini moraju biti proizvedeni i kontrolisani u skladu sa metodama i zahtjevima Evropske farmakopeje i Farmakopeje Bosne i Hercegovine.

Propisanim standardima postavljeni su zakonski i naučni okviri za kontrolu kvaliteta tokom razvoja, proizvodnje i procesa registracije lijekova. Standardi definišu kvalitativni i kvantitativni sastav kao i testove koji se sprovode na gotovim proizvodima, aktivnim i pomoćnim supstancama i intermedijarnim produktima, a oni moraju biti proizvedeni u skladu sa postavljenim zahtjevima i kao takvi registrovani u zemljama potpisnicama Konvencije.

Potpisom Konvencije država članica se obavezuje da će:

- progresivno elaborirati Evropsku farmakopeju;
- poduzeti sve potrebne mjere kako bi se obezbijedilo da monografije Evropske farmakopeje postanu zvanični standardi koji se primjenjuju na teritoriji države članice.

Svrha postojanja Evropske farmakopeje je promocija javnog zdravlja upotrebom priznatih zajedničkih standarda, čije postojanje olakšava neometano i slobodno kretanje lijekova u Evropi te obezbjeđuje kvalitet lijekova koji se koriste u Evropi i izvan nje.

Za pripremu Evropske farmakopeje odgovorna je Evropska komisija za farmakopeju (u daljem tekstu: „Komisija“). Komisija se sastoji od delegacija koje imenuju države članice. Svaka delegacija sastoji se od najviše 3 člana izabrana zbog njihove kompetentnosti u pitanjima koja su u okviru funkcija Komisije.

Komisija o aktivnostima odlučuje tokom sjednica koje se održavaju tri puta godišnje. Ukoliko najmanje dvije države članice izraze želju za izradom monografije, Komisija dodaje tačku u program rada.

Novo izdanje Evropske farmakopeje izdaje se svake 3 godine, a u ovom periodu se izdaje ukupno osam dodataka. Službena verzija Evropske farmakopeje dostupna je na engleskom i francuskom jeziku.

Datum početka primjene monografija utvrđen je Rezolucijom Evropskog odbora za lijekove i farmaceutsku njegu Savjeta Evrope, slijedeći preporuku Komisije. Prijedloge za reviziju teksta Evropske farmakopeje može podnijeti delegacija, predsjedavajući Komisije, predsjedavajući grupe eksperata ili radnih grupa ili Sekretarijat.

Zahtjevi za reviziju monografija država članica podnose se putem Nacionalnog farmakopejskog tijela (NPA).

Odsjek za farmakopeju Agencije predstavlja NPA države članice i odgovoran je za kontakt i komunikaciju sa Sekretarijatom Komisije za Evropsku farmakopeju.

Prijedlozi moraju biti popraćeni adekvatnim podacima koji opravdavaju potrebu za revizijom. Monografije i drugi tekstovi Evropske farmakopeje revidiraju se prema potrebi nakon odluke Komisije, a nacrti revidiranih tekstova objavljuju se u *Pharmeuropi* (*online* pristup).

Monografije i drugi tekstovi koji se pojavljuju u ovom Nacionalnom dodatku osmišljeni su da zadovolje potrebe: regulatornog tijela, svih onih koji se bave kontrolom kvaliteta lijekova i njihovih sastojaka te proizvođača medicinskih proizvoda i njihovih pojedinačnih komponenti.

Kako i proizlazi iz zakonskih ovlaštenja, odnosno nadležnosti utvrđenih Zakonom o lijekovima i medicinskim sredstvima, Komisija za farmakopeju je kao osnovu za izradu ovog Nacionalnog dodatka koristila deseto izdanje Evropske farmakopeje.

Deseto izdanje Evropske farmakopeje sadrži 2462 monografije (uključujući dozne forme), 383 opšta teksta (uključujući opšte monografije i metode analize) i približno 2850 opisa reagenasa.

Nacionalni dodatak se sastoji od prevoda opštih monografija i monografija po učestalosti primjene, neophodnih za rad magistara farmacije u apotekama, bolničkim apotekama, u proizvodnji i kontroli kvaliteta lijekova. U slučaju spora u tumačenju prevoda tekstova iz Evropske farmakopeje, originalni tekst se uzima kao važeći.

Odabrano je ukupno 40 monografija za prevod, uključujući Opšte napomene. Iz oblasti farmakognozije, uz prevode monografija, prevedeni su nazivi i definicije 302 biljne droge.

U skladu sa odlukom ove komisije za odabrane monografije koje su bile predmet prevođenja u prvoj važećoj verziji Nacionalnog dodatka, preuzete su originalne oznake kao reference na odabrana poglavlja Evropske farmakopeje i poredane hronološki prema rastućem redoslijedu. Predložene su i najčešće korištene čajne mješavine čiji je sastav, broj i omjer droga definisan u skladu sa preporukama Komiteta za herbalne medicinske proizvode (HMPC) pri Evropskoj medicinskoj Agenciji (EMA).

Nacionalni dodatak sadrži i Smjernice dobre pripreme lijekova u apotekama, pripremljene na osnovu literature o dobrim praksama, a uključuju i različite pristupe u kontroli preparata i određivanje rokova upotrebe.

U skladu sa revizijom monografija u Evropskoj farmakopeji, Komisija za farmakopeju Agencije će usklađivati i prevode monografija objavljenih u Nacionalnom dodatku. Po iskazanoj potrebi Nacionalni dodatak može biti dopunjen prevodima novih tekstova.



OPŠTE NAPOMENE

1. OPŠTE NAPOMENE

04/2022:10000

1.1. OPŠTI NAVODI

1.1.1. Opšti principi

- 1.1.1.1. Sistemi kvaliteta
- 1.1.1.2. Uobičajeni izrazi
- 1.1.1.3. Upućivanje na regulatorne dokumente

1.1.2. Usaglašenost sa Ph. Eur.

- 1.1.2.1. Područje primjene
- 1.1.2.2. Dokaz usaglašenosti sa Ph. Eur.
- 1.1.2.3. Dokaz pogodnosti monografija
- 1.1.2.4. Validacija i primjena farmakopejskih analitičkih procedura
- 1.1.2.5. Alternativne analitičke procedure
- 1.1.2.6. Farmakopejska harmonizacija

1.2. OSTALE ODREDBE KOJE SE PRIMJENJUJU NA MONOGRAFIJE I OPŠTA POGLAVLJA

1.2.1. Količine

1.2.2. Stakleno posuđe

1.2.3. Temperatura

1.2.4. Vodeno kupatilo

1.2.5. Sušenje i žarenje do konstantne mase

1.2.6. Rastvori

1.2.7. Reagensi i rastvarači

1.2.8. Izražavanje sadržaja

1.2.9. Mjere predostrožnosti

1.3. OPŠTA POGLAVLJA

1.3.1. Materijali za spremnike i spremnici (*containers*)

1.4. OPŠTE MONOGRAFIJE I OPŠTE MONOGRAFIJE FARMACEUTSKIH OBLIKA

1.5. POJEDINAČNE MONOGRAFIJE

1.5.1. Opšti principi

1.5.1.1. Naslovi

1.5.1.2. Relativne atomske i molekulske mase, formule

1.5.1.3. CAS registarski broj

1.5.1.4. Definicija (*Definition*)

1.5.1.5. Proizvodnja (*Production*)

1.5.1.6. Potencijalno falsifikovanje (*Potential adulteration*)

1.5.1.7. Osobine (*Characters*)

1.5.1.8. Identifikacija

1.5.1.9. Ispitivanja i određivanje sadržaja (*Tests and Assay*)

1.5.1.10. Čuvanje (*Storage*)

1.5.1.11. Označavanje (*Labelling*)

1.5.1.12. Onečišćenja

1.5.1.13. Osobine pomoćnih supstanci povezane sa njihovom posebnom namjenom (*Functionality related characteristics of excipients*)

1.5.2. MONOGRAFIJE BILJNIH DROGA

1.5.3. MONOGRAFIJE LIJEKOVA KOJI SADRŽE HEMIJSKI DEFINISANE AKTIVNE SUPSTANCE

1.5.3.1. Srodne supstance

1.5.3.2. Brzina oslobađanja aktivne supstance/Raspadljivost

1.5.3.3. Onečišćenja

1.5.3.4. Čuvanje (*Storage*)

1.6. REFERENTNI STANDARDI

1.7. KRATICE I ZNAKOVI

1.8. JEDINICE MEĐUNARODNOG SISTEMA (SI) KORIŠTENE U FARMAKOPEJI I NJIHOVA ISTOVRIJEDNOST SA DRUGIM JEDINICAMA

1.1. Opšti navodi

1.1.1. OPŠTI PRINCIPI

Opšte napomene primjenjuju se na sve tekstove Evropske farmakopeje.

Tekstovi Evropske farmakopeje objavljuju se na engleskom i francuskom jeziku. U zemljama potpisnicama Konvencije o izradi Evropske farmakopeje može se prevoditi na druge jezike. U slučaju sumnje ili spora mjerodavne su jedino engleska ili francuska verzija koje objavljuje EDQM.

Datum stupanja na snagu tekstova Evropske farmakopeje određen je rezolucijom Evropskog odbora za lijekove i farmaceutsku njegu (Parcijalni sporazum) Vijeća Evrope, prema preporuci Komisije Ph. Eur. Ovaj datum je obično godinu dana nakon usvajanja i oko šest mjeseci nakon objave. Ako tekst treba stupiti na snagu prije sljedećeg datuma objave novog izdanja ili dodatka Evropske farmakopeje, izdaje se rezolucija Evropskog odbora za lijekove i farmaceutsku njegu u kojoj se navodi cjeloviti tekst koji treba implementirati. Za informaciju, tekst se takođe objavljuje u Pharmeuropa Online i na internetskoj stranici EDQM-a kao dio rezolucije.

U tekstovima Evropske farmakopeje riječ „Farmakopeja“, bez drugih navoda, označava Evropsku farmakopeju. Za označavanje Evropske farmakopeje može se koristiti službena skraćenica Ph. Eur.

1.1.1.1. Sistemi kvaliteta

Standardi kvaliteta predstavljeni u monografijama validni su samo kad su predmetni preparati izrađeni u okviru odgovarajućeg sistema kvaliteta. Sistem kvaliteta mora obezbijediti da preparati dosljedno ispunjavaju farmakopejske zahtjeve.

1.1.1.2. Uobičajeni izrazi

Lijek (*medicinal product*): (a) svaka supstanca ili kombinacija supstanci kojoj se pripisuju osobine liječenja ili sprječavanja bolesti ljudi i/ili životinja; ili (b) svaka supstanca ili kombinacija supstanci koja se može koristiti ili primijeniti na ljudima i/ili životinjama sa ciljem da se vrate u funkciju, koriguju ili modifikuju fiziološke funkcije, ispoljavanjem farmakološkog, imunološkog ili metaboličkog dejstva, ili za postavljanje medicinske dijagnoze.

Aktivna supstanca (*active substance*): svaka supstanca namijenjena korištenju u proizvodnji lijeka, koja, tako upotrebljena, postaje aktivni sastojak lijeka. Takve supstance namijenjene su da obezbijede farmakološko dejstvo ili drugi direktan efekat u dijagnostici, liječenju, ublažavanju, terapiji i sprečavanju bolesti, ili da utiču na strukturu i funkcionalnost organizma. Pomoćna supstanca (ekscipijens) (*excipient, auxiliary substance*): svaki sastojak lijeka koji nije aktivna supstanca. Pomoćne supstance su naprimjer adjuvansi, stabilizatori, konzervansi, sredstva za razrjeđivanje, antioksidansi.

Biljni lijek (*herbal medicinal product*): svaki lijek koji kao aktivne supstance sadrži isključivo jednu ili više biljnih droga ili jedan ili više preparata biljnih droga ili jednu ili više takvih biljnih droga u kombinaciji sa jednim ili više takvih preparata biljnih droga.

Nadležno tijelo (*competent authority*) označava nacionalno, nadnacionalno ili međunarodno tijelo ili zainteresovanu organizaciju, koja ima ovlaštenje za donošenje odluke o određenom pitanju. To može biti, naprimjer nacionalno farmakopejsko tijelo (*national pharmacopoeia authority* - NPA), nadležno tijelo za dozvole za stavljanje lijeka u promet ili službena laboratorija za kontrolu lijekova (*Official medicines control laboratory* - OMCL).¹

„Osim ako nije drugačije opravdano i odobreno“ označava da zahtjevi moraju biti ispunjeni, osim ako nadležno tijelo u pojedinom opravdanom slučaju odobri izmjenu (npr. analitičkog postupka ili granice) ili izuzeće.

Izjave koje sadrže riječ „trebalo bi“ (*should*) su obavještajne ili savjetodavne.

U određenim monografijama ili drugim tekstovima se izrazi „pogodan“ (*suitable*) i „odgovarajući“ (*appropriate*) koriste za opisivanje reagensa, mikroorganizma, metode ispitivanja itd. Ako kriterijumi prihvatljivosti nisu opisani monografijom, prihvatljivost se demonstrira usaglašenošću sa zahtjevima nadležnog organa.

¹ U Bosni i Hercegovini Agencija za lijekove i medicinska sredstva je nadležni organ za davanje dozvole za stavljanje lijeka u promet, Komisija za farmakopeju u okviru Agencije je nadležna za izradu i objavljivanje Nacionalnog dodatka farmakopeje i Kontrolni laboratorij Agencije je službeni laboratorij za provjeru kvaliteta lijekova.

1.1.1.3. Upućivanje na regulatorne dokumente

Monografije i opšta poglavlja mogu da sadrže reference, tj. mogu da se pozivaju na dokumente koji su izdati od strane nadležnih organa, a u vezi su sa lijekovima, npr. direktive i napomene za preporuke Evropske unije. Ove reference služe kao informacija korisnicima Farmakopeje. Osim ako nije izričito navedeno u tekstu, dodatkom takve poveznice ne mijenja se status dokumenata na koje se odnosi.

1.1.2. USAGLAŠENOST SA PH. EUR.

1.1.2.1. Područje primjene

Korištenje naslova ili latinskog podnaslova monografije podrazumijeva da preparat odgovara zahtjevima navedenim u monografiji. Kad se u tekstu Farmakopeje upućuje na monografiju, tada se naslov i referentni broj monografije pišu udesno kosim (*italic*) slovima.

Područje primjene monografije navedeno je u dijelu Definicija (*Definition*).

Lijekovi na čijim se oznakama navodi modifikovano međunarodno nezaštićeno ime (*modified international nonproprietary name, INN*) njihove aktivne supstance (npr. Raltegravir kalijum) moraju biti u skladu sa monografijom o lijeku, čak i ako naslov monografije upućuje samo na nemodifikovani INN (npr. *Raltegravir, tablete (2938)*).

Rok trajanja (*shelf life*) i period ponovnog ispitivanja (*re-test period*). Lijek mora biti u skladu sa zahtjevima odgovarajuće monografije tokom propisanog roka trajanja. O određenom roku trajanja, kao i o početnom vremenu od kad se računa, odlučuje nadležno tijelo na osnovu eksperimentalnih rezultata studija stabilnosti. Nadležno tijelo može odrediti drugačiji rok trajanja i/ili zahtjeve kvaliteta za otvarane ili načete spremnike.

Predmet bilo koje druge monografije mora ispuniti zahtjeve tokom cijelog razdoblja do ponovnog ispitivanja, osim nekih supstanci za koje je poznato da su nestabilne i određenih antibiotika kod kojih je utvrđen rok trajanja, a ne period ponovnog ispitivanja.

Monografije lijekova propisuju zahtjeve kvaliteta u roku trajanja koji se mogu razlikovati u odnosu na odobrene zahtjeve kvaliteta pri puštanju u promet. Ostale monografije donose zahtjeve kvaliteta koji moraju biti ispunjeni do kraja perioda ponovnog ispitivanja.

Humana i/ili veterinarska primjena. Aktivne supstance, pomoćne supstance (ekscipijensi), lijekovi i drugi predmeti opisani monografijama namijenjeni su humanoj i veterinarskoj primjeni (osim ako primjena nije izričito ograničena na samo jednu od tih skupina u naslovu ili opisu).

Ocjene. Određeni predmeti farmakopejskih monografija mogu postojati u različitim stepenima kvaliteta pogodnim za različite namjene. Ako u monografiji nije drugačije navedeno, zahtjevi se primjenjuju na sve stepene kvaliteta.

U nekim monografijama, posebno pomoćnih supstanci, može se dodati i lista odgovarajućih osobina povezanih sa posebnom namjenom (*functionality-related characteristics*), važnih za upotrebu takve supstanci. Analiitičke procedure za određivanje jedne ili više tih osobina mogu se takođe dodati za informaciju.

1.1.2.2. Dokaz usaglašenosti sa Ph. Eur.

Ako u poglavlju *Opšte napomene* ili u monografijama nije drugačije naglašeno, navodi u monografijama čine obavezujuće zahtjeve.

- (1) Predmet monografije je farmakopejskog kvaliteta ako zadovoljava sve zahtjeve monografije Ph. Eur. To ne znači da proizvođač, kao preduslov za puštanje proizvoda u promet, mora provesti sva ispitivanja navedena u monografiji da bi procijenio usaglašenost sa zahtjevima Ph. Eur. Proizvođač može obezbijediti proizvod farmakopejskog kvaliteta na osnovu njegovog dizajna zajedno sa strategijom kontrole i izvedenim podacima, npr. iz validacijskih studija proizvodnog postupka. U pojedinim monografijama, rečenica „Sljedeća procedura data je kao primjer“ (*The following procedure is given as an example*) znači da je opisana analitička procedura validirana i da se može primijeniti kao takva ili da se može, uz odobrenje nadležnog tijela, zamijeniti odgovarajućom, validiranom procedurom (bez potrebe da se dokaže njegova ekvivalentnost proceduri „primjera“).

- (2) Poboljšani pristup kontroli kvaliteta može dakoristi strategije procesne analitičke tehnologije (PAT) i/ili testiranje za puštanje u promet u realnom vremenu (*real-time release testing*) (uključujući parametarsko puštanje). I u okolnostima kad je testiranje za puštanje u promet u realnom vremenu procijenjeno odgovarajućim od strane nadležnog tijela, to ne isključuje potrebu ispunjenja zahtjeva Ph. Eur.
- (3) Redukcija testiranja na životinjama: U skladu sa 3R principom Evropska farmakopeja posvećena je postepenom smanjivanju korištenja životinja u svrhu ispitivanja (*Replacement, Reduction, Refinement*; zamjena pokusnog modela, smanjenje broja životinja u pokusima, usavršavanje metoda i postupaka na životinjama) postavljenim u Evropskoj konvenciji za zaštitu kičmenjaša koji se koriste u ispitivanjima i u druge naučne svrhe (*European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes*). Kad dokazuju usaglašenost sa Ph. Eur., kako je navedeno gore pod (1), proizvođači mogu razmotriti uspostavljanje dodatnih sistema za nadzor dosljednosti praćenja konzistentnosti proizvodnje. Uz odobrenje nadležnog tijela, ukoliko su propisani testovi na životinjama, izbor testova u svrhu provjere usaglašenosti sa Farmakopejom sprovodi se na način da se upotreba životinja svede na najmanju moguću mjeru.

1.1.2.3. Dokaz pogodnosti monografija

Budući da na izbor analitičkih postupaka može uticati postupak proizvodnje i/ili sastav lijeka, proizvođač mora ocijeniti pogodnost monografije za kontrolu kvaliteta svoje supstance ili lijeka. U slučajevima kada nadležno tijelo smatra da su zahtjevi kvaliteta opisani u monografiji nedovoljni za obezbjeđenje kvaliteta lijeka ili supstance, ono može od proizvođača zatražiti prikladnije zahtjeve kvaliteta u skladu sa nacionalnim ili regionalnim propisima. O takvim slučajevima nadležno tijelo obavještava Komisiju Ph. Eur. putem nacionalnog farmakopejskog tijela ili Sekretarijata Komisije Ph. Eur. (EDQM). Od proizvođača se zahtijeva da nacionalnom farmakopejskom tijelu ili EDQM-u dostavi pojedinosti o navodnoj nedostatnosti i primijenjenim dodatnim zahtjevima kvaliteta, kako bi Komisija Ph. Eur. mogla odlučiti o potrebi revizije predmetne monografije.

1.1.2.4. Validacija i primjena farmakopejskih analitičkih procedura

Analitičke procedure date u pojedinačnim monografijama validirane su u skladu sa prihvaćenom naučnom praksom i preporukama o analitičkoj validaciji.

Ako u monografiji ili opštem poglavlju nije drugačije navedeno, validacija metoda testiranja od strane analitičara nije potrebna.

Analitičke procedure date u opštim poglavljima mogu se koristiti za aktivne supstance, pomoćne supstance, lijekove i druge proizvode koji nisu obuhvaćeni pojedinačnom monografijom. U takvim slučajevima, za validaciju postupaka odgovoran je korisnik.

Kad se analitička procedura iz Ph. Eur. implementira, korisnik mora ocijeniti treba li i do koje mjere dokazati njegovu pogodnost u trenutnim uslovima upotrebe, u skladu sa odgovarajućom monografijom, opštim poglavljima i sistemima kvaliteta.

1.1.2.5. Alternativne analitičke procedure

Opisana ispitivanja i određivanja sadržaja službene su analitičke procedure na kojima se zasnivaju norme Ph. Eur. Uz saglasnost nadležnog tijela, u svrhu provjere kvaliteta dozvoljeno je primjenjivati i alternativne analitičke procedure, pod uslovom da se njihovom primjenom može nedvosmisleno zaključiti da su zadovoljeni zahtjevi monografije, na isti način kao kad je ispitivanje provedeno službenim analitičkim procedurama. U slučaju bilo kakve sumnje ili spora, jedino su mjerodavne analitičke procedure koje propisuje Ph. Eur.

1.1.2.6. Farmakopejska harmonizacija

Evropska farmakopeja uključena je u proces farmakopejske harmonizacije sa Japanskom farmakopejom i Farmakopejom Sjedinjenih Američkih Država, unutar neformalne strukture koja se naziva Grupa za raspravu o farmakopeji (*Pharmacopoeial Discussion Group* - PDG). Više informacija dostupno je u opštem poglavlju 5.8 *Farmakopejska harmonizacija*.

1.2. OSTALE ODREDBE KOJE SE PRIMJENJUJU NA MONOGRAFIJE I OPŠTA POGLAVLJA

1.2.1. KOLIČINE

U ispitivanju sa brojčanim granicama i u određivanju sadržaja, navedena količina koja se uzima za ispitivanje odgovara količini korištenoj tokom razvoja analitičke procedure. Stvarno upotrebljena količina može odstupati najviše 10% od navedene količine. U svakom slučaju, upotrebljena se količina tačno izmjeri i rezultat ispitivanja izračuna iz te tačne količine.

Pri ispitivanjima u kojima granice nisu izražene brojčano, već obično zavise od poređenja sa ponašanjem poredbene supstance pod istim uslovima, za ispitivanje se uzima navedena količina.

Reagensi se koriste u propisanim količinama.

Broj značajnih cifara količinske vrijednosti podrazumijeva posebne zahtjeve za količine (mase i zapremine) koje treba izmjeriti, kao što je detaljno opisano u nastavku.

Za mase, zahtjevi za analitičke vage navedeni su u opštem poglavlju 2.1.7 i primjenjivi su na sve tekstove. Osim toga, tokom vaganja, prikaz odvage mora odgovarati ciljanoj vrijednosti mase navedene u tekstu kad se matematički zaokruži na isti broj značajnih cifara. Naprimjer, ako je u tekstu navedena ciljana vrijednost mase 50,0 mg, „minimalna odvaga“ (m_{\min}) korištene vage mora biti manja i važe se unutar ± 5 podjedinica nakon posljednje cifre navedene vrijednosti mase (na primjer, 50,0 mg treba tumačiti kao raspon od 49,95 mg do 50,04 mg ili od 49,950 mg do 50,049 mg, zavisno od najmanjeg mogućeg očitavanja vage (*readability*)).

Za zapremine, ako je brojka iza decimalnog zareza nula ili završava nulom (na primjer, 10,0 mL ili 0,50 mL), ciljani volumen mjeri se pomoću volumetrijske pipete, odmjerne tikvice ili birete, kako je prikladnije; inače se može koristiti menzura ili graduisana pipeta. Zapremine navedene u mikrolitrima mjere se mikropipetom ili mikroštrcaljkom.

Poznato je, međutim, da u određenim slučajevima broj značajnih cifara sa kojima se pišu količine ne odgovara broju značajnih cifara navedenih u određenoj brojčanoj granici. Navedene količine tada se mjere sa dovoljno većom tačnošću.

1.2.2. STAKLENO POSUĐE

Stakleno volumetrijsko posuđe odgovara zahtjevima za klasu A odgovarajuće međunarodne norme koju je izdala Međunarodna organizacija za standardizaciju (*International Organisation for Standardisation, ISO*).

Ako nije drugačije propisano, za vizuelna poredbena ispitivanja koriste se potpuno jednake epruvete ravnog dna od bezbojnog, providnog i neutralnog stakla. Za propisanu zapreminu tečnosti koriste se epruvete unutrašnjeg promjera 16 mm, a epruvete većeg unutrašnjeg promjera mogu se upotrijebiti pod uslovom da se prilagodi zapremina tečnosti (vidjeti opšte poglavlje 2.1.5, *Epruvete za poredbena ispitivanja*). Jednake zapremine tečnosti koje se porede posmatraju se u difuznom svjetlu duž overtikalne ose epruveta prema bijeloj podlozi ili, ako je potrebno, prema crnoj podlozi. Ispitivanje se provodi pod difuznom svjetlošću.

1.2.3. TEMPERATURA

Ako nije drugačije propisano, analitički se postupci provode na temperaturi između 15 °C i 25 °C.

Kad se u tekstu navodi temperatura bez brojčane vrijednosti, opšti izrazi imaju sljedeće značenje:

- u zamrzivaču: ispod – 15 °C,
- u frižideru: od 2 do 8 °C,
- ohlađeno ili hladno: od 8 do 15 °C,
- sobna temperatura: od 15 do 25 °C.

1.2.4. VODENO KUPATILO

Izraz „vodeno kupatilo“ označava kupatilo sa ključalom vodom, osim ako nije istaknuta druga temperatura vode. Druge metode za zagrijavanje mogu se primjenjivati pod uslovom da je temperatura blizu, ali ne viša od 100 °C ili od naznačene temperature.

1.2.5. SUŠENJE I ŽARENJE DO KONSTANTNE MASE

Izrazi „suši do konstantne mase“ i „žari do konstantne mase“ označavaju da se dvije uzastopne odvage ne smiju razlikovati više od 0,5 mg, s tim da drugo vaganje slijedi nakon dodatnog sušenja ili žarenja, zavisno od prirode i količine ostatka.

Kad se sušenje propisuje izrazom „u eksikatoru“ ili u „vakuumu“, ono se provodi u uslovima propisanim u poglavlju 2.2.32. *Gubitak sušenjem*.

1.2.6. RASTVORI

„*Svježe pripremljen rastvor*“ znači da se rastvor priprema svaki put kada treba provesti ispitivanje/određivanje sadržaja i da se iskoristi unutar 24 h.

„*Neposredno prije upotrebe*“ označava da je utvrđeno kako je stabilnost odgovarajućeg(ih) rastvora kritična tokom ispitivanja. Vrijeme između pripreme i upotrebe mora se svesti na minimum.

1.2.7. REAGENSI I RASTVARAČI

Pravilno provođenje analitičkih postupaka opisanih u Ph. Eur. i pouzdanost rezultata djelimično zavise i od kvaliteta korištenih reagensa. Reagensi su u Ph. Eur. opisani u opštom poglavlju 4. *Reagensi* i potpoglavljima. Podrazumijeva se da se upotrebljavaju reagensi analitičkog stepena čistoće. Za neke su reagense u opis uvrštena i ispitivanja za utvrđivanje njihove prikladnosti.

Ako nije propisana slijepa proba, svaki rastvarač potreban u ispitivanju ili određivanju sadržaja, u kojem se koristi indikator, potrebno je prethodno neutralizovati uz taj indikator.

Kad naziv rastvarača nije naveden, izraz „*rastvor*“ podrazumijeva rastvor u vodi.

Kad se u Ph. Eur. u analitičkim postupcima ili za pripremu reagensa navodi ili se podrazumijeva upotreba vode, koristi se voda koja odgovara zahtjevima navedenim u monografiji *Voda, prečišćena* (0008). Osim toga, ona se koristi i kad nisu važni zahtjevi za bakterijske endotoksine (*Prečišćena voda na veliko*) i mikrobiološku čistoću (*Prečišćena voda u spremnicima*). Izraz „*destilovana voda*“ podrazumijeva prečišćenu vodu dobijenu destilacijom.

Izraz „*etanol*“ bez dodatne kvalifikacije, znači bezvodni etanol. Izraz „*alkohol*“ bez dodatne kvalifikacije, znači etanol (96%). Ostala se razrjeđenja etanola označavaju izrazima „*etanol*“ ili „*alkohol*“ obavezno popraćenim izrazom potrebnog procenta zapremine etanola (C₂H₆O).

1.2.8. IZRAŽAVANJE SADRŽAJA

U izražavanju sadržaja izraz „*posto*“ odnosno „*postotak*“ koristi se, zavisno od okolnosti, u jednom od dva značenja:

- „*posto m/m*“ (procenat, udio mase u masi) izražava broj grama supstance u 100 grama gotovog proizvoda,
- „*posto V/V*“ (procenat, udio zapremine u zapremini) izražava broj mililitara supstance u 100 mililitara gotovog proizvoda.

Ako nije drugačije navedeno, izrazi „*dijelova na milion*“ (ppm) i „*dijelova na milijardu*“ (ppb) označavaju udio mase u masi.

1.2.9. MJERE PREDOSTROŽNOSTI

Predmeti monografija i reagensi navedeni za upotrebu u Ph. Eur. mogu štetiti zdravlju ako se ne preduzmu odgovarajuće mjere predostrožnosti. Zato, u svakom trenutku je potrebno zadovoljiti principe dobre laboratorijske prakse u kontroli kvaliteta i odredbama svih odgovarajućih propisa. U nekim se monografijama upozorava na određene opasnosti isticanjem upozorenja. Svakako, izostavljanje takvih upozorenja ne znači da opasnosti nema.

1.3. OPŠTA POGLAVLJA

Opšta poglavlja (vidjeti cjeline 2, 3 i 5 Ph. Eur.) postaju obvezujuća kad se na njih poziva određena monografija, osim ako se u tekstu jasno ne navodi da namjerno nisu postavljene da bi obavezivali već se navode samo kao informacija.

Ako se opšte poglavlje ne spominje ni u jednoj monografiji ili opštem poglavlju, dato je za informaciju; to je obično naznačeno u uvodnom dijelu opšteg poglavlja.

Osim ako nije drugačije navedeno, opšta poglavlja takođe postaju obavezna kad se na njih upućuje u drugom opštem poglavlju na koje se poziva u nekoj monografiji.

Zahtjevi uključeni u opšta poglavlja ne ponavljaju se u pojedinačnim monografijama, osim ako su specifični za pojedini predmet (npr. faktor simetrije, odnos signala i šuma iz opšteg poglavlja 2.2.46. *Hromatografske separacione tehnike*).

1.3.1. MATERIJALI ZA SPREMNIKE I SPREMNICI

Materijali za spremnike opisani su u opštem poglavlju 3.1. *Materijali za proizvodnju spremnika* i potpoglavljima. Svako potpoglavlje obuhvata određene plastične materijale sa važećim popisom prihvaćenih aditiva. Zahtjevi kvaliteta za svaki od ovih materijala zavise od formulacije te su primjenjivi samo za materijale čija je formulacija obuhvaćena uvodnim dijelom zahtjeva za kvalitet. Upotreba materijala različitih formulacija, kao i metode ispitivanja i granične vrijednosti koje se na njih primjenjuju podnose se nadležnom tijelu na odobravanje.

Zahtjevi kvaliteta za spremnike u opštem poglavlju 3.2. *Spremnici* razrađeni su kako bi se mogli uopšteno primjenjivati na spremnike određene klase, ali imajući u vidu veliku raznovrsnost dostupnih spremnika kao i mogućnost razvoja novih, postavljanje ovih zahtjeva kvaliteta ne isključuje, u opravdanim okolnostima, upotrebu spremnika usaglašanih sa drugim zahtjevima kvaliteta, ako to odobri nadležno tijelo.

Spremnici za ljudsku krv i krvne sastojke, setovi za transfuziju i štrcaljke koji nisu dizajnirani da služe kao primarno pakovanje za lijekove opisani su u 3.3. *Spremnici za ljudsku krv i krvne sastojke i materijali od kojih se proizvode; setovi za transfuziju krvi i materijali od kojih se proizvode; štrcaljke* i potpoglavljima. Većina ovih tekstova objavljena je samo za informaciju.

Monografija Ph. Eur. može se pozivati na opise i zahtjeve kvaliteta za spremnike. U opštim monografijama za farmaceutске oblike može se, pod naslovima *Opis/Proizvodnja*, zahtijevati upotreba određenih vrsta spremnika kako je opisano u opštem poglavlju 3.2. *Spremnici* i potpoglavljima, dok druge monografije mogu, pod naslovom *Čuvanje* ukazivati na upotrebu određene vrste spremnika.

1.4. OPŠTE MONOGRAFIJE I OPŠTE MONOGRAFIJE FARMACEUTSKIH OBLIKA

Opšte monografije i pojedinačne monografije su komplementarne.

Kad god se koristi pojedinačna monografija, bitno je utvrditi postoji li jedna ili više opštih monografija primjenjivih na predmet monografije.

Supstance i lijekovi koji su predmet pojedinačne monografije moraju zadovoljiti i zahtjeve odgovarajućih, primjenjivih opštih monografija. Poveznice na primjenjive opšte monografije ne navode se u pojedinačnim monografijama. Međutim, mogući su izuzeci; na primjer, pojedinačne monografije lijekova koji sadrže hemijski definisane aktivne supstance uključuju poveznicu na odgovarajuću opštu monografiju farmaceutskog oblika.

Opšte monografije daju zahtjeve primjenjive na sve predmete u datoj klasi ili, u nekim slučajevima, na bilo koji predmet u datoj klasi za koji postoji pojedinačna monografija u Ph. Eur. Ako u uvodnom dijelu nije navedeno ograničenje područja primjene opšte monografije, ono je primjenjivo na sve predmete u definisanoj klasi, nezavisno od toga postoji li pojedinačna monografija za predmet u Ph. Eur.

Ako se odredbe opšte monografije ne primjenjuju na pojedinačni predmet, to je izričito navedeno u pojedinačnoj monografiji.

Opšte monografije farmaceutskih oblika primjenjuju se na sve lijekove određene vrste. Zahtjevi nisu nužno sveobuhvatni za određeni lijek, a nadležno tijelo može nametnuti dodatne zahtjeve u odnosu na one propisane u opštoj monografiji.

1.5. POJEDINAČNE MONOGRAFIJE

1.5.1. OPŠTI PRINCIPI

1.5.1.1. Naslovi

Naslovi monografija u Evropskoj farmakopeji su na engleskom ili francuskom jeziku u odgovarajućim verzijama, a podnaslov je na latinskom jeziku.

Kad je dostupno, koristi se međunarodno nezaštićeno ime (*international nonproprietary name, INN*), osim ako postoje opravdani razlozi da se tako ne postupa. Ako je potrebno, nadopunjuje se imenom aniona ili kationa i stepenom hidratacije. Dodatna obilježja mogu ograničiti primjenjivost monografije na određene klase ili oblike (npr. veterinarska primjena, farmaceutski oblik, put primjene).

1.5.1.2. Relativne atomske i molekulske mase, formule

Relativna atomska masa (A_r) ili relativna molekulska masa (M_r) nalazi se, ako i gdje je to primjenjivo, na početku svake monografije.

Relativne atomske i molekulske mase te molekulske i grafičke formule ne predstavljaju analitičke standarde za opisane supstance.

1.5.1.3. CAS registarski broj

Chemical Abstract Service (CAS) registarski brojevi uključeni su u monografije za informaciju, kad je primjenjivo, u svrhu davanja korisnicima adekvatnog pristupa informacijama. CAS registarski broj[®] je zaštitni znak Američkog udruženja hemičara (*American Chemical Society*).

1.5.1.4. Definicija (*Definition*)

U ovom se odjeljku službeno opisuje predmet monografije.

Granice sadržaja (*Limits of content*). Ako su propisane, granice sadržaja su određene analitičkim postupkom opisanim pod *Određivanje sadržaja*.

1.5.1.5. Proizvodnja (*Production*)

Izjave pod naslovom *Proizvodnja* skreću pažnju na određene aspekte proizvodnog postupka, ali nisu nužno sveobuhvatne. One predstavljaju obavezujuće zahtjeve za proizvođače, ako nije drugačije propisano. Mogu se odnositi, na primjer na izvorne supstance, na sam proizvodni postupak i na njegovu validaciju i kontrolu, heterogenost proizvoda koja potiče od proizvodnog postupka, na procesnu kontrolu ili na ispitivanja koja proizvođač provodi na gotovom proizvodu, bilo na odabranim serijama ili na svakoj seriji prije puštanja u promet. Ovi

se zahtjevi ne mogu nužno potvrditi od strane nezavisnog analitičara na uzorku gotovog proizvoda. Nadležno tijelo može ustanoviti da je proizvođač postupio po uputstvima, naprimjer pregledom podataka dobijenih od proizvođača, nadzorom proizvodnje ili ispitivanjem odgovarajućih uzoraka.

Odsutnost odjeljka *Proizvodnja* ne znači da ne treba obraćati pažnju na gore navedene činjenice.

Izbor soja vakcine, Izbor sastava vakcine. Odjeljak u monografiji *Proizvodnja* može odrediti karakteristike soja vakcine ili sastav vakcine. Ako nije drugačije propisano, analitički postupci dati za potvrdu tih karakteristika navedeni su za informaciju kao primjeri odgovarajućih postupaka. Ako to odobri nadležno tijelo, drugi se postupci mogu koristiti bez validacije u odnosu na postupak iz monografije.

1.5.1.6. Potencijalno falsifikovanje (*Potential adulteration*)

Uslijed sve većeg broja neovlaštenih aktivnosti i slučajeva falsifikovanja, korisnicima Ph. Eur. mogu se dati informacije koje bi im pomogle otkriti falsifikovane supstance (npr. aktivne supstance, pomoćne supstance, međuproizvode, proizvode u rasutom stanju i lijekove).

U tu svrhu se u ovaj odjeljak monografija supstanci, kod kojih se dogodio incident ili za koje postoji rizik od namjernog zagađenja, može uvrstiti analitički postupak za otkrivanje mogućih falsifikata i odgovarajuće granice. U tim je slučajevima prikazan i podsjetnik da su svi koraci proizvodnje i nabavke sastavni dio odgovarajućeg sistema kvaliteta. Učestalost ispitivanja od strane proizvođača ili korisnika (npr. proizvođača međuproizvoda, rasutih proizvoda i gotovih proizvoda, kad je primjenjivo) zavise od procjene rizika, uz uzimanje u obzir stepena poznavanja cijelog lanca snabdijevanja i nacionalnih zahtjeva.

Zahtjevi navedeni u ovom odlomku primjenjivi su na cijeli lanac snabdijevanja, od proizvođača do korisnika. Izostanak ovog odlomka ne znači da nije potrebno obratiti pažnju na gore navedeno.

1.5.1.7. Osobine (*Characters*)

Izrazi ispod naslova *Osobine* ne predstavljaju obavezujuće zahtjeve Ph. Eur. i dati su samo za informaciju.

Higroskopnost, kristalitet, rastvorljivost. Vidjeti opšte poglavlje 5.11. *Odjeljak Osobine u monografijama*.

Polimorfizam. Kada supstanca pokazuje polimorfizam, to je obično navedeno. Osim u rijetkim slučajevima, u monografijama se ne zahtijeva određeni kristalni oblik. Međutim, u zavisnosti od funkcije supstance u lijeku, može biti neophodno da proizvođač osigura upotrebu određenog kristalnog oblika. Namjena informacija u odjeljku *Osobine* je da upozorava korisnike na potrebu procjene ovog aspekta tokom razvoja lijeka. Vidjeti i opšte poglavlje 5.9. *Polimorfizam*.

1.5.1.8. Identifikacija

Područje primjene. Ispitivanja navedena u odeljku pod naslovom *Identifikacija* nisu predviđena da daju punu potvrdu hemijske strukture ili sastava proizvoda, već su namijenjena potvrdi, sa prihvatljivim stepenom sigurnosti, da proizvod odgovara deklarisanom opisu.

Test identifikacije može se odnositi na ispitivanje u odjeljku monografije pod naslovom *Ispitivanje*.

Ako su, na primjer, u monografiji navedeni identifikacioni testovi A, B i C, sva tri ispitivanja moraju se provesti i moraju zadovoljiti zahtjeve.

Određene monografije daju dva ili više niza identifikacionih testova koji su ekvivalentni i mogu se koristiti nezavisno. Prethodi im rečenica tipa „Provedu se ili ispitivanja A, B ili ispitivanja C, D“. Na primjer, jednim se ispitivanjem utvrđuje enantiomerna čistoća hromatografijom, dok je drugo ispitivanje specifične optičke rotacije; namjena oba ispitivanja je ista, tj. provjera prisutnosti ispravnog enantiomera.

U nekim monografijama odjeljak za identifikaciju podijeljen je na sljedeći način.

- *Prva identifikacija.* Ispitivanje(a) koje(a) čini(e) prvu identifikaciju može(gu) se koristiti u svim okolnostima.
- *Druga identifikacija.* Ispitivanje(a) koje(a) čini(e) drugu identifikaciju može(gu) se koristiti samo u apotekama, pod uslovom da se može dokazati da postoji sljedivost proizvoda do serije za koju je izdan sertifikat analize da ispunjava sve ostale zahtjeve monografije. Implementacija testa druge identifikacije podliježe nacionalnim propisima.

1.5.1.9. Testiranje i određivanje sadržaja (*Tests and Assay*)

Područje primjene. Zahtjevima nije uzeto u obzir prisustvo svih mogućih onečišćenja. To ne znači da se može pretpostaviti da je neko onečišćenje dozvoljeno, samo zato što nije moguće da se dokaže propisanim ispitivanjima, ako zdrav razum i dobra farmaceutska praksa nalažu da ga nema. Vidjeti i u nastavku pod 1.5.1.12. *Onečišćenja*.

Proračun. Kad se zahtijeva da se rezultati ispitivanja ili određivanja sadržaja izračunaju u odnosu na suhu ili bezvodnu supstancu ili u odnosu na neku drugu navedenu osnovu, određivanje gubitka sušenjem, sadržaja vode ili druge osobine provodi se prema monografijom propisanom postupku. Izrazi kao „*suha supstanca*“ ili „*bezvodna supstanca*“ pojavljuju se u zagradi nakon rezultata.

Kad se provodi kvantitativno određivanje zaostalog rastvarača, a ne vrši se ispitivanje gubitka sušenjem, kod izračunavanja sadržaja supstance, specifične optičke rotacije i specifične apsorbance uzima se u obzir sadržaj zaostalog rastvarača. U određenoj monografiji o tome se ne daje nikakav dodatni navod.

Granice (*Limits*). Propisane granice zasnivaju se na podacima dobijenim uobičajenom analitičkom praksom i svrha im je pokazati da ispitivani preparat zadovoljava zahtjeve monografije. Granice, do prihvatljivog raspona, uzimaju u obzir uobičajene analitičke greške, prihvatljiva variranja u proizvodnji/izradi, kao i gubitak vrijednosti starenjem. Kad se provjerava zadovoljava li ispitivani proizvod zahtjeve monografije, ne smiju se dopustiti veća odstupanja od propisanih granica.

Ako nije drugačije propisano, kod provjere usklađenosti sa zahtjevima brojčane granične vrijednosti, izračunati rezultat analitičkog postupka najprije se zaokružuje na postavljeni broj značajnih cifara. Kod granica se, bez obzira da li je vrijednost izražena u procentima ili kao apsolutna vrijednost, sve do posljednje cifre smatraju značajnima (na primjer, 0,15 ima dvije značajne znamenke, a 140 ima tri značajne cifre). Prilikom zaokruživanja uzima se u obzir samo cifra koja se nalazi odmah desno od posljednjeg mjesta u graničnoj vrijednosti. Ako je ova cifra manja od pet, odbacuje se, a prethodna cifra se ne mijenja. Ako je ova cifra jednaka ili veća od pet, odbacuje se, a prethodna znamenka se povećava za jedan.

Izražavanje dozvoljenih granica onečišćenja. Granice za srodne supstance izražavaju se kao poređenje površina ispod pikova (poredbena metoda) ili kao brojčane vrijednosti (kvantitativna metoda). Kod ispitivanja u kojima se koristi poredbena metoda, približni dozvoljeni sadržaj onečišćenja ili zbir onečišćenja može se navesti u zagradama samo kao obaviještenje. Uzorak se prihvata ili odbacuje na osnovu zadovoljenja ili nezadovoljenja navedenih granica.

Ako za navedeno onečišćenje nije propisano korištenje poredbene, referentne supstance, sadržaj onečišćenja može se izraziti kao nominalna koncentracija supstance korištene za pripremu poredbenog rastvora navedenog u monografiji, ako nije drugačije propisano.

Hiralne supstance. Monografije koje opisuju određeni enantiomer obuhvataju ispitivanje za potvrdu enantiomerne čistoće korištenjem specifične optičke rotacije ili hromatografskog postupka.

Ispitivanje karakteristika racemata pomoću optičke rotacije uključuje se samo ako postoji saznanje koje upućuje na to da će specifična optička rotacija enantiomera biti dovoljno isključiva po pitanju enantiomerne čistoće.

Ekvivalenti. Ako se navodi ekvivalent neke supstance, kod primjene zahtjeva propisanih monografijom koriste se samo navedene brojčane vrijednosti. Na primjer, kod titracija: 1 m *1M hlorovodonične kiseline* odgovara 50,05 mg CaCO₃.

Hranjive podloge. Za hranjive podloge, opisane monografijama i opštim poglavljima, utvrđeno je da su pogodne za navedenu namjenu. Međutim, sastojci podloga, posebno onih biološkog porijekla, promjenjivog su kvaliteta, iza optimalni učinak može biti neophodno izmijeniti koncentraciju nekih sastojaka, naročito:

- peptona, mesnih ili ekstrakata kvasca, imajući u vidu njihovu nutritivnu vrijednost;
- pufera;
- žučnih soli, žučnih ekstrakata, deoksiholata i sredstava za bojenje, u zavisnosti od njihovih selektivnih osobina;
- antibiotika, u odnosu na njihovu aktivnost.

1.5.1.10. Čuvanje (*Storage*)

Informacije i preporuke navedene pod naslovom *Čuvanje* nisu sastavni dio farmakopejskog zahtjeva.

Predmeti opisani u Ph. Eur. čuvaju se tako da se spriječi onečišćenje i, koliko je moguće, razgradnja. Ako su preporučeni posebni uslovi čuvanja, uključujući i vrstu spremnika (vidjeti: 1.3.1. *Materijali za spremnike i spremnici*) i temperaturne granice, onda se navode u monografiji.

Sljedeći izrazi koriste se u monografijama pod naslovom *Čuvanje* sa značenjem kako je to navedeno u nastavku:

Izraz „u nepropusnom spremniku“ znači da se proizvod čuva u spremniku nepropusnom za vazduh (3.2. *Spremnici*). Potrebno je voditi računa kada se spremnik otvara u vlažnoj atmosferi. Niska vlažnost može se održavati, ako je potrebno, pomoću sredstva za sušenje u spremniku, ali tako da se izbjegne direktni kontakt sa proizvodom.

Izraz „zaštićeno od svjetlosti“ znači da se proizvod čuva ili u spremniku od materijala koji dovoljno apsorbira aktinjsko svjetlo da bi zaštitio sadržaj od promjena izazvanih djelovanjem takvog svjetla ili se čuva u spremniku sa vanjskim omotom koji na sličan način štiti od svjetlosti ili se čuva na mjestu gdje nema takvog svjetla..

1.5.1.11. Označavanje (*Labelling*)

Uopšteno, označavanje lijekova podliježe nadnacionalnoj i nacionalnoj regulativi te međunarodnim sporazumima.

Iz tog razloga navodi ispod naslova *Označavanje* nisu sveobuhvatni. Dodatno, za potrebe Ph. Eur. obavezni su samo navodi neophodni da bi pokazali da supstanca zadovoljava ili ne zadovoljava zahtjeve monografije. Svi drugi navodi za označavanje uvršteni su kao preporuke.

Kad se izraz „oznaka“ koristi u Ph. Eur., navodi za označavanje mogu se pojaviti na spremniku, pakovanju, uputstvu uz pakovanje ili certifikatu analize priloženom uz predmet, u skladu sa odlukom nadležnog tijela.

1.5.1.12. Onečišćenja

U monografije se može uvrstiti lista svih poznatih i potencijalnih onečišćenja koja se mogu detektovati ispitivanjima. Vidjeti i opšte poglavlje 5.10. *Kontrola nečistoća u supstancama za farmaceutsku upotrebu*. Onečišćenja su označena slovom ili slovima abecede. Ako se dogodi da neko slovo nedostaje, to znači da je onečišćenje označeno tim slovom izbrisano sa spiska u toku razvoja monografije, prije objavljivanja ili tokom revizije monografije.

1.5.1.13. Osobine pomoćnih supstanci povezane sa njihovom namjenom

Ovaj odjeljak uključen je u neke monografije pomoćnih supstanci. Njegov sadržaj ne predstavlja obavezujuće zahtjeve, ali osobine mogu biti relevantne za određenu upotrebu pomoćne supstance i navedene su kao smjernice. Odluka o kontroli osobina pomoćne supstance povezane sa njenom posebnom namjenom ostaje na proizvođaču lijeka i donosi se uz poznavanje formulacije lijeka u kojem će se koristiti; analitičke postupke, granice i dozvoljena odstupanja određuju, na osnovu ugovora, korisnik i dobavljač pomoćne supstance (vidi i Ocjene u odjeljku 1.1.2.1 Područje primjene).

1.5.2. MONOGRAFIJE BILJNIH DRUGA

Ovaj odjeljak dopunjava odjeljak 1.5.1. Opšti principi.

Definicija (*Definition*). U monografijama biljnih droga definicijom se ukazuje na to da li je predmet monografije, na primjer, cijela ili usitnjena biljna droga. Kad se monografija primjenjuje na različite oblike biljne droge, na primjer na cijelu i usitnjenu biljnu drogu, to se definicijom jasno ističe.

Identifikacija. Monografije biljnih droga mogu sadržavati šematske crteže mikroskopskih botaničkih struktura najprikladnijih za identifikaciju. Ovi crteži dopunjavaju opis propisan u odgovarajućem testu identifikacije.

Ispitivanja i određivanje sadržaja (*Tests and Assay*). Sulfatni ostatak, ukupan pepeo, supstance rastvorljive u vodi, supstance rastvorljive u alkoholu, sadržaj vode i sadržaj sastojaka poznatog terapijskog djelovanja ili markera izračunavaju se u odnosu na biljnu drogu koja nije posebno sušena, osim ako monografijom nije drugačije propisano.

1.5.3. MONOGRAFIJE LIJEKOVA KOJI SADRŽE HEMIJSKI DEFINISANE AKTIVNE SUPSTANCE

Ovaj odjeljak nadopunjuje odjeljak 1.5.1. Opšti principi.

Monografije lijekova namijenjene su samo za lijekove za humanu upotrebu, osim ako nije drugačije naznačeno u monografiji.

Lijekovi su u skladu s opštom monografijom Farmaceutski preparati (2619), monografijom odgovarajućeg farmaceutskog oblika, svakom odgovarajućom pojedinačnom monografijom i bilo kojim drugim odgovarajućim tekstom.

1.5.3.1. Srodne supstance

Monografije o lijekovima daju granice za degradacione proizvode koji nastaju tokom proizvodnje i roka trajanja lijeka, uključujući sva onečišćenja koja nastaju tokom sinteze, koja su takođe degradacioni proizvodi.

U određenim okolnostima potrebno je u lijeku identifikovati onečišćenja koja nastaju tokom sinteze, na primjer, kad se u ispitivanju srodnih supstanci otkriju na nivou većem od praga izvještavanja za taj lijek. Posljedično, monografija opisuje kako identifikovati sva takva poznata onečišćenja koja nastaju tokom sinteze, tako da se ista zanemare i ne uzimaju u obzir.

Monografije lijekova nisu dizajnirane za kontrolu onečišćenja koja nastaju tokom sinteze, a nisu degradacioni proizvodi. Međutim, ispitivanja navedena u monografiji mogla bi se koristiti za kontrolu onečišćenja koja nastaju tokom sinteze, za koja je poznato da su prepoznata monografijom, ako ih korisnik u tu svrhu dodatno validira.

Poznato je da mogu biti potrebne dodatne kontrole za praćenje degradacionih proizvoda za koje monografijom nije predviđena kontrola (npr. degradacioni proizvodi koji se odnose na različite korištene pomoćne supstance ili spremnike ili one koje potiču iz drugog proizvodnog postupka).

1.5.3.2. Brzina oslobađanja aktivne supstance/ Raspadljivost

U nastavku se koriste sljedeći izrazi:

- *ispitivanje brzine oslobađanja aktivne supstance prema monografiji*: analitički postupak i kriteriji prihvatljivosti opisani su u pojedinačnoj monografiji;
- *ispitivanje brzine oslobađanja aktivne supstance specifično za proizvod*: analitički postupak i kriteriji prihvatljivosti koje je podnosilac zahtjeva predložio za lijek u zahtjevu za davanje dozvole za stavljanje lijeka u promet (MAA);
- *interno (in-house) ispitivanje brzine oslobađanja aktivne supstance*: analitički postupak koji je razvio podnosilac zahtjeva i kriteriji prihvatljivosti koje je odredio.

U skladu sa odgovarajućim smjernicama koje se primjenjuju na nacionalnom ili regionalnom nivou (poput smjernice ICH Q6A) i sa odgovarajućim monografijama farmaceutskih oblika Evropske farmakopeje, podnosilac zahtjeva mora predložiti odgovarajuće ispitivanje brzine oslobađanja aktivne supstance specifično za proizvod za rutinsku kontrolu kvaliteta kako bi se potvrdila ujednačenost serija proizvoda. Ovo ispitivanje mora biti opisano u zahtjevu za davanje dozvole za stavljanje lijeka u promet (MAA) radi podnošenja nadležnom tijelu, osim ako postoje podaci koji opravdavaju zamjenu ispitivanja brzine oslobađanja aktivne supstance ispitivanjem raspadljivosti (vidi u nastavku). Podnosilac zahtjeva mora dokazati prihvatljivost ispitivanja brzine oslobađanja aktivne supstance na način da zadovolji zahtjeve nadležnog tijela.

Kad je odgovarajuće, ispitivanje brzine oslobađanja aktivne supstance opisano je u pojedinačnoj monografiji lijeka. U takvim slučajevima podnosilac zahtjeva kao ispitivanje brzine oslobađanja aktivne supstance specifično za proizvod može izabrati ispitivanje brzine oslobađanja aktivne supstance prema monografiji ili interno(*in-house*) razviti ispitivanje brzine oslobađanja aktivne supstance. U svakom slučaju, podnosilac zahtjeva mora dokazati prikladnost odabranog ispitivanja prihvatljivu nadležnom tijelu.

Ako se predlaže interno (*in-house*) ispitivanje brzine oslobađanja aktivne supstance, opravdanje neodabira ispitivanja brzine oslobađanja aktivne supstance prema monografiji i dokazivanje usaglašenosti sa ispitivanjem prema monografiji obično se ne traži u zahtjevu za davanje odobrenja za stavljanje lijeka u promet.

Međutim, kada se ispituje, lijek mora biti u skladu sa ispitivanjem brzine oslobađanja aktivne supstance prema monografiji, osim ako to podnosilac zahtjeva nije drugačije opravdao.

Ako određeni lijek ne zadovoljava zahtjeve ispitivanja brzine oslobađanja aktivne supstance prema monografiji i ako ovaj proizvod može odobriti nadležno tijelo, tada nadležno tijelo o tome obavještava Komisiju Ph. Eur. kako bi moglo pregledati monografiju i, po potrebi, istu revidirati.

Kao što je navedeno u smjernici ICH Q6A, za brzo rastvorljive lijekove koji sadrže aktivne supstance vrlo rastvorljive u cijelom fiziološkom rasponu, ispitivanje brzine oslobađanja aktivne supstance može se zamijeniti ispitivanjem raspadljivosti. Takvu zamjenu podnosilac zahtjeva mora zadovoljavajuće opravdati nadležnom tijelu.

1.5.3.3. Onečišćenja

Onečišćenja koja su već navedena u monografiji aktivne supstance, označena velikim slovom (A, B, C, D itd.), zadržavaju svoj naziv. Onečišćenja specifična za lijek označena su s „FP-“ nakon čega slijedi slovo abecede (FP-A, FP-B, itd.).

1.5.3.4. Čuvanje (*Storage*)

Kao i kod ostalih monografija, navodi sadržani u odjeljku *Čuvanje* u monografiji lijeka predstavljaju samo preporuke; uz odobrenje nadležnog tijela, u zavisnosti od lijeka, mogu se primijeniti i drugi uslovi čuvanja.

1.6. REFERENTNI STANDARDI

Određene monografije zahtijevaju upotrebu referentnih standarda koji mogu biti hemijske referentne supstance (*chemical reference substances*, CRSs), biljni referentni standardi (*herbal reference standards*, HRSs), biološki referentni preparati (*biological reference preparations*, BRPs) i referentni spektri. Vidjeti i poglavlje 5.12. *Referentni standardi*. Osim ako nije drugačije navedeno, referentni standardi na koje se upućuje u tekstovima jedini su mjerodavni u slučaju arbitraže.

1.7. SKRAĆENICE I SIMBOLI

A	apsorbanca
$A_{1\text{cm}}^{1\%}$	specifična apsorbanca
A_r	relativna atomska masa
$[\alpha]_D^{20}$	specifična optička rotacija
bp	tačka ključanja
BRP	biološki referentni preparat
CRS	hemijska referentna supstanca
d_{20}^{20}	relativna gustoća
λ	talasna dužina
HRS	biljni referentni standard
IU	međunarodna jedinica (<i>International Unit</i>)
M	molaritet

M_r	relativna molekulska masa
mp	tačka topljenja
n_D^{20}	indeks refrakcije
Ph. Eur. U.	Evropska farmakopejska jedinica
ppb	jedinica na milijardu (mikrogram po kilogramu)
ppm	jedinica na milion (miligram po kilogramu)
R	supstanca ili rastvor opisan pod 4. Reagensi
R_f	faktor usporavanja, <i>retardation</i> (vidjeti poglavlje 2.2.46. <i>Hromatografske separacione tehnike</i>)
R_{st}	koristi se u hromatografiji za označavanje odnosa dužine puta supstance i dužine puta referentne supstance
RV	supstanca koja se koristi kao primarni standard u volumetrijskoj analizi (poglavlje 4.2.1. <i>Primarni standardi za volumetrijske rastvore</i>)

Skraćenice u monografijama o imunoglobulinima, imunoserumima i vakcinama:

CFU	broj jedinki koje stvaraju koloniju
LD_{50}	statistički utvrđena količina supstance za koju se može očekivati da, primijenjena utvrđenim putem primjene, uzrokuje smrt 50% pokusnih životinja u određenom vremenu
MLD	minimalna smrtna doza
L+/10 doza	najmanja količina toksina koja, pod uslovima ispitivanja, pomiješana sa 0,1 IU antitoksina, primijenjena utvrđenim putem primjene, uzrokuje smrt pokusnih životinja tokom određenog vremena
L+ doza	najmanja količina toksina koja, pod uslovima ispitivanja, pomiješana sa 1 IU antitoksina, primijenjena utvrđenim putem primjene uzrokuje smrt pokusnih životinja tokom određenog vremena
Ir/100 doza	najmanja količina toksina koja, pod uslovima ispitivanja, pomiješana sa 0,01 IU antitoksina i ubrizgana potkožno uzrokuje karakterističnu reakciju na mjestu ubrizgavanja tokom određenog vremena
Lp/10 doza	najmanja količina toksina koja, pod uslovima ispitivanja, pomiješana sa 0,1 IU antitoksina, primijenjena utvrđenim putem primjene uzrokuje paralizu pokusnih životinja tokom određenog vremena
Lo/10 doza	najveća količina toksina koja, pod uslovima ispitivanja, pomiješana sa 0,1 IU antitoksina, tokom određenog vremena ne uzrokuje znakove toksičnosti kod eksperimentalnih životinja tokom određenog vremena
Lf doza	količina toksina ili toksoida koja u najkraćem vremenu stvara pahuljice (flokule) sa 1 IU antitoksina
$CCID_{50}$	statistički utvrđena količina virusa za koju se može očekivati da će zaraziti 50% ćelija kulture u koju je dodat virus
EID_{50}	statistički utvrđena količina virusa za koju se može očekivati da će zaraziti 50% oplodjenih jaja u koja se virus inokulira
ID_{50}	statistički utvrđena količina virusa za koju se može očekivati da će zaraziti 50% životinja u koje se virus inokulira
PD_{50}	statistički utvrđena doza vakcine za koju se u uslovima ispitivanja može očekivati da će zaštititi 50% životinja od isprobane doze mikroorganizama ili toksina protiv kojih je vakcina efikasna
ED_{50}	statistički utvrđena doza vakcine za koju se u uslovima ispitivanja može očekivati da će stvoriti specifična antitijela u 50% životinja za svrsishodne virusne antigene
PFU	jedinice koje formiraju džepove ili jedinice koje formiraju plak
SPF	oslobođen specifičnih patogenih supstanci

Zbirke mikroorganizama

ATCC	American Type Culture Collection
C.I.P.	Collection de Bactéries de l'Institut Pasteur
IMI	International Mycological Institute
I.P.	Collection Nationale de Culture de Microorganismes (C.N.C.M.)
NBRC	NITE Biological Resource Center
NCIMB	National Collection of Industrial and Marine Bacteria Ltd
NCPF	National Collection of Pathogenic Fungi
NCTC	National Collection of Type Cultures
NCYC	National Collection of Yeast Cultures
S.S.I.	Statens Serum Institut

1.8. JEDINICE MEĐUNARODNOG SISTEMA (SI) KOJE SE KORISTE U FARMAKOPEJI I NJIHOVA EKVIVALENTNOST SA DRUGIM JEDINICAMA

MEĐUNARODNI SISTEM JEDINICA (SI)

Međunarodni sistem jedinica sastoji se od dvije glavne klase jedinica: osnovnih i izvedenih jedinica². Osnovne jedinice su: metar, kilogram, sekunda, amper, kelvin, mol i kandela.

Izvedene jedinice mogu se formirati slaganjem kao produkt određenih potencija osnovnih jedinica u skladu sa algebarskim odnosima, vezujući ih na odgovarajuće količine. Neke od tih izvedenih jedinica imaju posebna imena i simbole. Izvedene jedinice koje se koriste u Farmakopeji navedene su u Tabeli 1.8-1.

Neke važne jedinice koje se široko koriste izvan Međunarodnog sistema prikazane su u Tabeli 1.8-2.

Prefiksi prikazani u Tabeli 1.8.-3. koriste se za formiranje naziva i simbola decimalnih djelilaca i sadržilaca SI jedinica.

Bilješke:

1. U Farmakopeji se koristi temperatura izražena u jedinici Celzijusovog stepena (t). Opisana je jednačinom:
 $t = T - T_0$
gdje je po definiciji $T_0 = 273,15$ K. Jedinica Celzijusovog stepena (simbol °C) odgovara jedinici Kelvina (K).
2. Radijan je ugao kod centra kruga zatvoren lukom kružnice koji je jednak u dužini poluprečnika kruga.
3. U Farmakopeji su uslovi centrifugiranja definisani u odnosu na ubrzanje gravitacije (g):
 $g = 9,80665 \text{ m s}^{-2}$.
4. U Farmakopeji se koriste određene veličine koje označuju neimenovane brojeve i to: relativna gustina (2.2.5), apsorbanca (2.2.25), specifična apsorbanca (2.2.25) i indeks refrakcije (2.2.6).
5. Mikrokatal je definisan kao enzimaska aktivnost koja pod određenim uslovima uzrokuje transformaciju (npr. hidrolizu) 1 mikromola supstrata u sekundi.

² Definicije jedinica koje se koriste u Internacionalnom sistemu su date u "Le Systeme International d'Unités(SI)", objavljenom od strane Bureau International des Poids et Mesures, Pavillon de Breteuil, F-92310 Sèvres.

Tabela 1.8.-1. – Izvedene jedinice u Evropskoj farmakopeji i ekvivalentnost sa ostalim jedinicama

Količina		Jedinica				Pretvaranje drugih jedinica u SI jedinice
Naziv	Simbol	Naziv	Simbol	Izražavanje u osnovnim SI jedinicama	Izražavanje u drugim jedinicama	
talasni broj	ν	recipročni metar	1/m	m^{-1}		
talasna dužina	λ	mikrometar nanometar	μm nm	$10^{-6}m$ $10^{-9}m$		
površina	A, S	kvadratni metar	m^2	m^2		
zapremina (volumen)	V	kubni metar	m^3	m^3		1 mL = 1 cm ³ = 10 ⁻⁶ m ³
frekvencija	ν	herc	Hz	s ⁻¹		
gustina	ρ	kilogram po kubnom metru	kg/m ³	kg m ⁻³		1g/mL = 1g/cm ³ = 10 ³ kg m ⁻³
brzina	v	metar u sekundi	m/s	m s ⁻¹		
silu	F	njutn	N	m kg s ⁻²		1 din = 1 g cm s ⁻² = 10 ⁻⁵ N 1 kp = 9,806 65 N
pritisk	p	paskal	Pa	m ⁻¹ kg s ⁻²		1 din/ cm ² = 10 ⁻¹ Pa = 10 ⁻¹ N m ⁻² 1 atm = 101 325 Pa = 101,325 kPa 1 bar = 10 ⁵ Pa = 0,1 MPa 1 mm Hg = 133,322 387 Pa 1 Tor = 133,322 368 Pa 1 psi = 6,894 757 kPa
dinamička viskoznost	η	paskal u sekundi	Pa·s	m ⁻¹ kg s ⁻¹	N s m ⁻²	1 P = 10 ⁻¹ Pa·s = 10 ⁻¹ N·s·m ⁻² 1 cP = 1 mPa·s
kinematička viskoznost	ν	kvadratni metar u sekundi	m ² /s	m ² ·s ⁻¹	Pa·s·m ³ ·kg ⁻¹ N·m·s·kg ⁻¹	1 St = 1 cm ² ·s ⁻¹ = 10 ⁻⁴ m ² ·s ⁻¹
energija, rad, količina toplote	W	džul	J	m ² ·kg·s ⁻²	N·m	1 erg = 1 cm ² ·g·s ⁻² = 10 ⁻⁷ J 1 cal = 4,1868 J
snaga, radijantni fluks	P	vat	W	m ² ·kg·s ⁻³	N·m·s ⁻¹ J·s ⁻¹	1 erg/s = 10 ⁻⁷ W 1 din·cm·s ⁻¹ = 10 ⁻⁷ W W = 10 ⁻⁷ N·m·s ⁻¹ = 10 ⁻⁷ J·s ⁻¹
apsorbovana doza zračenja	D	grej	Gy	m ² ·s ⁻²	J·kg ⁻¹	1 rad = 10 ⁻² Gy
razlika električnih potencijala, elektromotorna sila (napon)	U	volt	V	m ² ·kg·s ⁻³ ·A ⁻¹	W·A ⁻¹	

Količina		Jedinica				Pretvaranje drugih jedinica u SI jedinice
Naziv	Simbol	Naziv	Simbol	Izražavanje u osnovnim SI jedinicama	Izražavanje u drugim jedinicama	
električni otpor	R	om	Ω	$\text{m}^2 \cdot \text{kg} \cdot \text{s}^{-3} \cdot \text{A}^{-2}$	$\text{V} \cdot \text{A}^{-1}$	
količina elektriciteta	Q	kulon	C	A·s		
aktivnost radionuklida	A	bekerelel	Bq	s^{-1}		1 Ci = $37 \cdot 10^9$ Bq = $37 \cdot 10^9 \text{ s}^{-1}$
koncentracija (količina supstance) molarna koncentracija	c	mol po kubnom metru	mol/m^3	$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$		1 mol/L = 1 M = $1 \text{ mol}/\text{dm}^3 = 10^3 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$
gustina, masena koncentracija	ρ	kilogram po kubnom metru	kg/m^3	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$		1 g/L = $1 \text{ g}/\text{dm}^3 = 1 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$
katalitička aktivnost	Z	katal	kat	$\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$		

Tabela 1.8.-2. – Jedinice koje nisu u Međunarodnom sistemu, ali se prihvataju za korištenje zajedno s njima

Veličina	Jedinica		Vrijednost u SI jedinicama
	Naziv	Znak	
vrijeme	minuta	min	1 min = 60 s
	sat	h	1 h = 60 min = 3600 s
	dan	d	1 d = 24 h = 86 400 s
ugao ravni	stepen	$^\circ$	1 $^\circ$ = $(\pi/180)$ rad
zapremina	litar	L	1 L = 1 l = $1 \text{ dm}^3 = 10^{-3} \text{ m}^3$
masa	tona	t	1t = 10^3 kg
frekvencija okretanja	okretaj u minuti	r/min	1 r/min = $(1/60) \text{ s}^{-1}$
energija	elektronvolt	eV	1 eV = $1,602176634 \times 10^{-19} \text{ J}$

Tabela 1.8.-3. – Decimalni multiplikatori i submultiplikatori SI jedinica

Faktor	Prefiks	Znak	Faktor	Prefiks	Simbol
10^{18}	eksa	E	10^{-1}	deci	d
10^{15}	peta	P	10^{-2}	centi	c
10^{12}	tera	T	10^{-3}	mili	m
10^9	giga	G	10^{-6}	mikro	μ
10^6	mega	M	10^{-9}	nano	n
10^3	kilo	k	10^{-12}	piko	p
10^2	hekto	h	10^{-15}	femto	f
10^1	deka	da	10^{-18}	ato	a



2

**GENERALNA
POGLAVLJA**

2. GENERALNA POGLAVLJA

2.2.1. BISTRINA I STEPEN OPALESCENCIJE TEKUĆINA

07/2017:20201

Opalescencija je efekat apsorpcije ili rasipanja svjetlosti na submikroskopskim česticama ili na nehomogenosti-ma optičke gustoće. Kad u otopini nema nikakvih čestica ili nehomogenosti, otopina je bistra.

Tekućina se smatra *bistrom* ako je njena bistrina jednaka bistrini *vode R* ili bistrini korištenog otapala ili ako je njena opalescencija nije naglašenija od opalescencije poredbene suspenzije I (vidjeti Tabelu 2.2.1.-1) kad se posmatra u dolje opisanim uslovima.

Zahtjevi u monografijama izražavaju se pojmovima vizuelne metode upoređivanjem sa određenim poredbe-nim suspenzijama (vidjeti Tabelu 2.2.1.-1). Za određivanje usklađenosti sa zahtjevima monografije takođe se mogu koristiti instrumentalne metode i to nakon što se jednom uspostavi prikladnost instrumenta, kao što je dolje opisano, i provede kalibracija pomoću poredbenih suspenzija I-IV i vode R, odnosno korištenog otapala.

VIZUELNA METODA

Ispitivana tekućina uporedi se sa svježe pripremljenom poredbenom suspenzijom koristeći identične epruvete za ispitivanje od bezbojnog, prozirnog, neutralnog stakla sa ravnim dnom, unutrašnjeg promjera 15–25 mm. Dubina slojeva u obje epruvete mora biti jednaka (oko 40 mm).

Tekućine se uporede pet minuta nakon pripreme poredbene suspenzije, na difuznom dnevnom svjetlu, posma-trajući okomito iznad crne pozadine.

Prikladnost sistema. Difuzija svjetlosti mora biti takva da se poredbena suspenzija I može lako razlikovati od vode R i da se poredbena suspenzija II može lako razlikovati od poredbene suspenzije I (vidjeti Tabelu 2.2.1.-1).

POREDBENE SUSPENZIJE

Formazin ima nekoliko poželjnih svojstava koja ga čine izvrsnim turbidimetrijskim standardom. Može se repro-ducibilno pripremiti iz sirovina poznatog sadržaja. Fizička svojstva čine ga poželjnim standardom za umjeravanje tehnika koje koriste rasipanje svjetlosti. Formazinski polimer sastavljen je od lanaca različite dužine koji se pre-klapaju u nasumične konfiguracije. Rezultat toga je veliki raspon čestica različitih veličina i oblika, što omogućava analizu različitih veličina čestica i oblika koji se mogu naći u stvarnim uzorcima. Stabilizirane suspenzije formazi-na koje se mogu koristiti za pripremu stabilnih, razrijeđenih turbidimetrijskih standarda dostupni su na tržištu i smiju se koristiti nakon što su prošli usporedbu sa standardima pripremljenim na dolje opisani način.

Svi koraci pripreme poredbenih suspenzija, kako je to dolje opisano, provode se na $25 \pm 3^\circ \text{C}$.

Otopina hidrazin sulfata. 1,0 g hidrazin sulfata R otopi se u vodi R i istim otapalom razrijedi do 100,0 mL. Ostavi se stajati 4–6 h.

Primarna suspenzija za opalescenciju (suspenzija formazina). U tikvici od 100 mL, ravnog dna s ubrušenim čepom, otopi se 2,5 g *heksametilentetramina R* u 25,0 mL *vode R*. Doda se 25,0 mL otopine hidrazin sulfata. Pomiješa se i ostavi stajati 24 sata. Ova suspenzija stabilna je dva mjeseca ako se čuva u staklenom spremniku bez površinskih oštećenja. Suspenzija ne smije prianjati na staklo i mora se dobro promućkati prije upotrebe.

Standard za opalescenciju. 15,0 mL primarne suspenzije za opalescenciju razrijedi se *vodom R* do 1000,0 mL. Ova se suspenzija priprema svježe i može se čuvati do 24 h.

Poredbene suspenzije. Poredbene suspenzije pripreme se prema Tabeli 2.2.1.-1. Promiješaju se i promućkaju prije upotrebe.

Tabela 2.2.1.-1.

	I	II	III	IV
Standard za opalescenciju	5,0 mL	10,0 mL	30,0 mL	50,0 mL
Voda R	95,0 mL	90,0 mL	70,0 mL	50,0 mL

2.2.2. STEPEN OBOJENOSTI TEKUĆINA

04/2008:20202

Ispitivanje stepena obojenosti tekućina u području smeđe-žuto-crveno provodi se prema dvije dolje navedene metode, kako je propisano u monografiji.

Otopina je bezbojna ako izgleda kao *voda R* ili otapalo ili nije jače obojena od poredbene otopine B₉.

METODA I

Upotrebom identičnih epruveta od bezbojnog, prozirnog i neutralnog stakla, vanjskog promjera 12 mm, uporedi se 2,0 mL ispitivane tekućine s 2,0 mL *vode R* ili otapala ili poredbene otopine (vidjeti: tabele poredbenih otopina), kako je propisano u monografiji. Boje se uporede na difuznom dnevnom svjetlu, gledajući vodoravno prema bijeloj podlozi.

METODA II

Upotrebom identičnih epruveta od bezbojnog, prozirnog i neutralnog stakla, ravnog dna, unutrašnjeg promjera 15–25 mm uporedi se ispitivana tekućina u visini stupca od 40 mm s *vodom R* ili otapalom ili poredbenom otopinom (vidjeti: tabele poredbenih otopina), kako je propisano u monografiji. Boje se uporede na difuznom dnevnom svjetlu, gledajući okomito prema bijeloj podlozi.

REAGENSI

Početne otopine

Žuta otopina. Otopi se 46 g željezo (III) hlorida R u oko 900 mL smjese od 25 mL hloridne kiseline R i 975 mL *vode R* i razrijedi do 1000,0 mL istom smjesom. Titrira se i prilagodi sadržaj FeCl₃, 6H₂O na 45,0 mg po mililitru dodavanjem iste kisele smjese. Otopina se zaštititi od svjetla.

Titracija. U Erlenmeyer tikvicu od 250 mL sa brušenim staklenim čepom stavi se 10,0 mL otopine, 15 mL *vode R*, 5 mL hloridne kiseline R i 4 g kalijum jodida R, tikvica se zatvori, ostavi na mračnom mjestu 15 minuta i doda 100 mL *vode R*. Oslobođeni jod se titrira 0,1 M natrijum tiosulfatom, uz upotrebu 0,5 mL otopine škroba R kao indikatora, dodanog pri kraju titracije.

1 mL 0,1 M natrijum tiosulfata odgovara 27,03 mg FeCl₃, 6H₂O.

Crvena otopina. Otopi se 60 g kobalt hlorida R u oko 900 mL smjese od 25 mL hloridne kiseline R i 975 mL *vode R* i razrijedi do 1000,0 mL istom smjesom. Titrira se i prilagodi sadržaj CoCl₂, 6H₂O na 59,5 mg/mL dodavanjem iste kisele smjese.

Titracija. U Erlenmeyer tikvicu od 250 mL sa brušenim staklenim čepom stavi se 5,0 mL otopine, 5 mL razrijeđene otopine hidrogen peroksida R i 10 mL 300 g/L otopine natrijum hidroksida R. Pažljivo se pusti da vrije 10

minuta, ostavi da se ohladi te se doda 60 ml *razrijeđene sumporne kiseline R* i 2 g *kalijum jodida R*. Tikvica se zatvori i talog rastopi laganim protresanjem. Oslobođeni jod se titrira 0,1 M *natrijum tiosulfatom*, uz upotrebu 0,5 mL *otopine škroba R* kao indikatora, dodanog pri kraju titracije. Završna tačka titracije se postiže kad se boja otopine promijeni u ružičastu.

1 mL 0,1 M *natrijum tiosulfata* odgovara 23,79 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Plava početna otopina. Otopi se 63 g *bakar (II) sulfata R* u oko 900 mL smjese od 25 mL hloridne kiseline R i 975 mL vode R i razrijedi do 1000,0 mL istom smjesom. Titrira se i prilagodi sadržaj $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ na 62,4 mg po mililitru dodavanjem iste kisele smjese.

Titracija. U Erlenmeyer tikvicu od 250 mL sa brušenim staklenim čepom stavi se 10,0 mL otopine, 50 mL vode R, 12 mL *razrijeđene acetatne kiseline R* i 3 g *kalijum jodida R*. Oslobođeni jod se titrira 0,1 M *natrijum tiosulfatom*, uz upotrebu 0,5 mL otopine škroba R kao indikatora, dodanog pri kraju titracije. Završna tačka titracije se postiže kad boja otopine postane blago svijetlosmeđa.

1 mL 0,1 M *natrijum tiosulfata* odgovara 24,97 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Standardne otopine

Upotrebom 3 početne otopine pripremi se 5 standardnih otopina kako slijedi (Tabela 2.2.2.-1):

Tabela 2.2.2.-1.

Standardne otopine	Volumen u mililitrima			
	Žuta otopina	Crvena otopina	Plava otopina	Hloridna kiselina (10 g/L HCl)
B (smeđa)	3,0	3,0	2,4	1,6
BY (smečkastožuta)	2,4	1,0	0,4	6,2
Y (žuta)	2,4	0,6	0,0	7,0
GY (zelenkastožuta)	9,6	0,2	0,2	0,0
R (crvena)	1,0	2,0	0,0	7,0

Poredbene otopine za Metode I i II

Upotrebom 5 standardnih otopina pripreme se sljedeće poredbene otopine:

Tabela 2.2.2.-2. Poredbene otopine B

Poredbena otopina	Volumen u mililitrima	
	Standardna otopina B	Hloridna kiselina (10 g/L HCl)
B ₁	75,0	25,0
B ₂	50,0	50,0
B ₃	37,5	62,5
B ₄	25,0	75,0
B ₅	12,5	87,5
B ₆	5,0	95,0
B ₇	2,5	97,5
B ₈	1,5	98,5
B ₉	1,0	99,0

Tabela 2.2.2.-3. Poredbene otopine BY

Poredbena otopina	Volumen u mililitrima	
	Standardna otopina BY	Hloridna kiselina (10 g/L HCl)
BY ₁	100,0	0,0
BY ₂	75,0	25,0
BY ₃	50,0	50,0
BY ₄	25,0	75,0
BY ₅	12,5	87,5
BY ₆	5,0	95,0
BY ₇	2,5	97,5

Tabela 2.2.2.-4. Poredbene otopine Y

Poredbena otopina	Volumen u mililitrima	
	Standardna otopina Y	Hloridna kiselina (10 g/L HCl)
Y ₁	100,0	0,0
Y ₂	75,0	25,0
Y ₃	50,0	50,0
Y ₄	25,0	75,0
Y ₅	12,5	87,5
Y ₆	5,0	95,0
Y ₇	2,5	97,5

Tabela 2.2.2.-5. Poredbene otopine GY

Poredbena otopina	Volumen u mililitrima	
	Standardna otopina GY	Hloridna kiselina (10 g/L HCl)
GY ₁	25,0	75,0
GY ₂	15,0	85,0
GY ₃	8,5	91,5
GY ₄	5,0	95,0
GY ₅	3,0	97,0
GY ₆	1,5	98,5
GY ₇	0,75	99,25

Tabela 2.2.2.-6. Poredbene otopine R

Poredbena otopina	Volumen u mililitrima	
	Standardna otopina R	Hloridna kiselina (10 g/L HCl)
R ₁	100,0	0,0
R ₂	75,0	25,0
R ₃	50,0	50,0
R ₄	37,5	62,5
R ₅	25,0	75,0
R ₆	12,5	87,5
R ₇	5,0	95,0

Čuvanje

Za Metodu I poredbene otopine se mogu čuvati u zatvorenim epruvetama od bezbojnog, prozirnog i neutralnog stakla, vanjskog promjera od 12 mm, zaštićene od svjetla.

Za Metodu II poredbene otopine se pripremaju neposredno prije upotrebe iz standardnih otopina.

2.2.3. POTENCIOMETRIJSKO ODREĐIVANJE pH

07/2016:20203

pH vodene otopine definiše se kao negativni logaritam aktivnosti vodikovih jona u toj otopini, iskazano kao koncentracija vodikovih jona otopine. Iz praktičnih razloga ova se definicija opisuje eksperimentalno. Odnos pH ispitivane i poredbene otopine (pH_s) može se prikazati sljedećom jednačinom:

$$pH = pH_s - \frac{E - E_s}{k}$$

gdje je E potencijal ćelije, izražen u voltima, koja sadrži ispitivanu otopinu, E_s je potencijal ćelije, izražen u voltima, koja sadrži otopinu poznatog pH (pH_s), dok je k promjena potencijala po jedinici izmjene pH, izražena u voltima i izračunata iz Nernstove jednačine.

Tabela 2.2.3.-1. Vrijednosti k pri različitim temperaturama

Temperatura (°C)	k (V)
15	0,0572
20	0,0582
25	0,0592
30	0,0601
35	0,0611

Potenciometrijsko određivanje pH izvodi se mjerenjem razlike potencijala između dvije prikladne elektrode uronjene u ispitivanu otopinu; jedna od tih elektroda osjetljiva je na vodikove jone (obično staklena elektroda), dok je druga poredbena elektroda (npr. elektroda srebro/srebro hlorid). Najčešće se kombinuju kao jedna kompaktna elektroda zajedno s temperaturnom sondom.

Uređaj. Mjerni uređaj najčešće je voltmetar sa ulaznim otporom najmanje 100 puta većim od otpora upotrijebljenih elektroda. Obično je graduisan u pH jedinicama i ima takvu osjetljivost da se može postići razlikovanje od najmanje 0,05 jedinica pH ili 0,003 V.

Noviji pH-metri nadziru se putem mikroprocesora, a njima se rukuje putem ugrađenog programa ili kompjuterskog programskog paketa (*software*) proizvođača prema priloženim uputstvima.

Rukovanje elektrodama. Elektrode se čuvaju na prikladan način u skladu sa preporukama proizvođača (npr. u otopini elektrolita ili odgovarajućoj otopini za čuvanje). Elektrode se vizuelno provjere prije mjerenja. Elektrode koje se nadopunjavaju provjere se radi odsustva mjehurića zraka u staklenoj kuglici elektrode i obezbijedi se odgovarajući nivo elektrolita u elektrodi. Otvor za punjenje elektrode treba biti otvoren tokom mjerenja. Preporučuje se, takođe, provjeriti dijafragmu poredbene elektrode. Prije prve upotrebe ili ako se elektroda čuvala izvan otopine elektrolita, obično ju je potrebno kondicionirati u skladu sa preporukom proizvođača. Ako se pri kalibraciji pH presporo stabilizuje (odnosno ima dugačko vrijeme odziva) ili je došlo do pomaka nulte tačke, do

smanjenja nagiba pravca ili su primijećene neke druge poteškoće, vrlo vjerovatno će elektrodu trebati očistiti ili zamijeniti. Način čišćenja elektrode zavisi od vrste uzorka i propisuje se uputstvima proizvođača. Preporučuje se redovno čišćenje elektrode.

Kalibracija i uslovi mjerenja. Ako nije drugačije monografijom propisano, sva se mjerenja provode na istoj temperaturi na kojoj je provedeno i umjeravanje ($\pm 2,5^\circ\text{C}$), obično između 20°C i 25°C . U Tabeli 2.2.3.-2. prikazana su variranja pH vrijednosti poredbenih puferških otopina korištenih za umjeravanje pri različitim temperaturama. Za temperaturnu korekciju potrebno je slijediti uputstva proizvođača.

Kalibracija se sastoji od određivanja nagiba pravca umjeravanja (npr. 95%–105%) i poravnavanja mjernog sistema. Većina komercijalno dostupnih pH-metara nudi „samokontrolu“ ili „početno ispitivanje“, kojim se ispituju npr. nagib i asimetričnost potencijala i upoređuju sa specifikacijama proizvođača. Uređaj se umjerava pomoću najmanje dvije puferške otopine odabrane tako da se očekivana pH vrijednost ispitivane otopine nalazi između pH vrijednosti puferških otopina. Raspon mora iznositi najmanje dvije pH jedinice. pH vrijednost kontrolne puferške otopine čiji je pH između prva dva izmjerena pH očitana na skali ne smije se razlikovati za više od 0,05 pH jedinica od vrijednosti koja odgovara toj otopini.

Preporučuje se koristiti poredbene puferške otopine koje su komercijalno dostupni potvrđeni poredbeni materijali. Puferške otopine još se mogu pripremiti prema Tabeli 2.2.3.-2. Ove otopine trebaju biti sljedive do primarnih standarda. Umjeravanje treba redovno provoditi, najbolje svaki dan mjerenja ili prije svake serije mjerenja.

Elektrode se urone u ispitivanu otopinu i očitavanje provede u istim uslovima kao za poredbene puferške otopine.

Ako se suspenzije, emulzije ili nevodene, odnosno djelimično nevodene tekućine mjere sistemom kalibrisanim na gore opisani način, očitavanje pH može se smatrati samo približno stvarnoj vrijednosti. Za mjerenje takvih smjesa potrebno je koristiti odgovarajuće elektrode.

Tabela 2.2.3.-2. pH vrijednosti poredbenih puferških otopina pri različitim temperaturama

Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Kalijum tetraoksalat 0,05 M	Kalijum hidrogen tartarat, zasićen, pri 25°C	Kalijum dihidrogen citrat 0,05 M	Kalijum hidrogen ftalat 0,05 M	Kalijum dihidrogen fosfat 0,025 M + dinatrijum hidrogen fosfat 0,025 M	Kalijum dihidrogen fosfat 0,0087 M + dinatrijum hidrogen fosfat 0,0303 M	Dinatrijum tetraborat 0,01 M	Natrijum karbonat 0,025 M + natrijum hidrogen karbonat 0,025 M	Kalcijum hidroksid, zasićen, pri 25°C
	$\text{C}_4\text{H}_3\text{KO}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_4\text{H}_3\text{KO}_6$	$\text{C}_6\text{H}_7\text{KO}_7$	$\text{C}_8\text{H}_3\text{KO}_4$	$\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$	$\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	$\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$	$\text{Ca}(\text{OH})_2$
15	1,67		3,80	4,00	6,90	7,45	9,28	10,12	12,81
20	1,68		3,79	4,00	6,88	7,43	9,23	10,06	12,63
25	1,68	3,56	3,78	4,01	6,87	7,41	9,18	10,01	12,45
30	1,68	3,55	3,77	4,02	6,85	7,40	9,14	9,97	12,29
35	1,69	3,55	3,76	4,02	6,84	7,39	9,10	9,93	12,13
$\frac{\Delta\text{pH}^{(1)}}{\Delta t}$	+0,001	-0,0014	-0,0022	+0,0012	-0,0028	-0,0028	-0,0082	-0,0096	-0,034

(1) Promjena pH po stepenu Celzijusa.

PRIPREMA POREDBENIH PUFERSKIH OTOPINA

Kalijum tetraoksalat 0,05 M. 12,61 g $C_4H_3KO_8 \cdot 2H_2O$ otopi se u vodi bez karbon dioksida R i istim otapalom razrijedi do 1000,0 mL.

Kalijum hidrogentartarat, zasićen pri 25°C. $C_4H_5KO_6$ u suvišku snažno se mučka sa vodom bez karbon dioksida R pri 25°C. Filtrira se ili dekantira. Priprema se neposredno prije upotrebe.

Kalijum dihidrogencitrat 0,05 M. 11,41 g $C_6H_7KO_7$ otopi se u vodi bez karbon dioksida R i istim otapalom razrijedi do 1000,0 mL. Priprema se neposredno prije upotrebe.

Kalijum hidrogenftalat 0,05 M. 10,13 g $C_8H_5KO_4$, prethodno sušenog tokom 1 sata na $110 \pm 2^\circ C$, otopi se u vodi bez karbon dioksida R i istim otapalom razrijedi do 1000,0 mL.

Kalijum dihidrogenfosfat 0,025 M + dinatrijum hidrogenfosfat 0,025 M. 3,39 g KH_2PO_4 i 3,53 g Na_2HPO_4 , oba prethodno sušena tokom 2 sata na $120 \pm 2^\circ C$, otope se u vodi bez karbon dioksida R i istim otapalom razrijede do 1000,0 mL.

Kalijum dihidrogenfosfat 0,0087 M + dinatrijum hidrogenfosfat 0,0303 M. 1,18 g KH_2PO_4 i 4,30 g Na_2HPO_4 , oba prethodno sušena tokom 2 sata na $120 \pm 2^\circ C$, otope se u vodi bez karbon dioksida R i istim otapalom razrijede do 1000,0 mL.

Dinatrijum tetraborat 0,01 M. 3,80 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ otopi se u vodi bez karbon dioksida R i istim otapalom razrijedi do 1000,0 mL. Čuva se zaštićeno od karbon dioksida iz zraka.

Natrijum karbonat 0,025 M + natrijum hidrogenkarbonat 0,025 M. 2,64 g Na_2CO_3 i 2,09 g $NaHCO_3$ otopi se u vodi bez karbon dioksida R i istim otapalom razrijedi do 1000,0 mL. Čuva se zaštićeno od karbon dioksida iz zraka.

Kalcijum hidroksid, zasićen pri 25°C. Kalcijum hidroksid R u suvišku mučka se sa vodom bez karbon dioksida R i dekantira pri 25°C. Čuva se zaštićeno od karbon dioksida iz zraka.

ČUVANJE PUFERSKIH OTOPINA

Puferske otopine se čuvaju u prikladnim, nepropusnim spremnicima otpornim na hemikalije, kao što su staklene boce od stakla vrste I ili plastični spremnici prikladni za vodene otopine.

2.2.4. Približna pH vrijednost otopina

01/2016:20204

Utvrđi se približna pH vrijednost koristeći pH indikatorsku traku R. Alternativno, mogu se koristiti pH indikatori poput onih opisanih u Tabeli 2.2.4.-1.

Tabela 2.2.4.-1.

Reakcija	pH	Indikator
Bazna	> 8	crveni lakmus papir R
Slabo bazna	8,0–10,0	otopina fenolftaleina R otopina timol plavo R
Jako bazna	> 10	fenolftalein papir R otopina timol plavo R
Neutralna	6,0–8,0	otopina metil crveno R otopina fenol crveno R
Kisela	< 6	otopina metil crveno R otopina bromtimol plavo R1
Slabo kisela	4,0–6,0	otopina metil crveno R otopina bromkrezol zeleno R
Jako kisela	< 4	kongo crveni papir R

2.2.5. RELATIVNA GUSTOĆA

01/2008:20205

Relativna gustoća $d_{t_2}^{t_1}$ neke supstance predstavlja odnos mase određene zapremine te supstance na temperaturi t_1 i mase iste zapremine vode na temperaturi t_2 .

Ako drugačije nije navedeno, relativna gustoća izražava se kao d_{20}^{20} . Relativna gustoća se takođe izražava kao d_4^{20} . Može da se koristi i oznaka za gustoću ρ_{20} i predstavlja odnos mase i zapremine te supstance na temperaturi 20°C. Izražava se u kilogramima po kubnom metru ili gramima po kubnom centimetru ($1 \text{ kg m}^{-3} = 10^{-3} \text{ g cm}^{-3}$).

Navedene količine povezane su sa sljedećim izrazima u kojima je gustina izražena u gramima po kubnom centimetru:

$$\rho_{20} = 0,998203 \times d_{20}^{20} \quad \text{ili} \quad d_{20}^{20} = 1,00180 \times \rho_{20}$$

$$\rho_{20} = 0,999972 \times d_4^{20} \quad \text{ili} \quad d_4^{20} = 1,00003 \times \rho_{20}$$

$$d_4^{20} = 0,998230 \times d_{20}^{20}$$

Relativna gustoća i gustoća se mjere sa preciznošću do onog broja decimalnih mjesta kako je propisano u monografiji, koristeći piknometar (čvrsta jedinjenja ili tečnosti), hidrostatsku vagu (čvrsta jedinjenja), hidrometar (tečnosti) ili digitalni uređaj za mjerenje gustine sa oscilirajućim konvertorom (tečnosti i gasovi). Kad se određivanje vrši mjerenjem mase, zanemaruje se napon vazduha, koji može da prouzrokuje grešku od 1 jedinice na trećoj decimali. Kad se koristi uređaj za gustinu, napon vazduha nema nikakav uticaj.

Uređaj za mjerenje gustine sa oscilirajućim konvertorom. Uređaj se sastoji od:

- cijevi U-oblika, obično od borosilikatnog stakla, u kojoj se nalazi ispitivana tečnost;
- magnetno-električnog ili piezo-električnog sistema koji uzrokuje da cijev oscilira kao konzolni oscilator na karakterističnoj frekvenciji zavisno od gustine ispitivanog rastvora;
- dijela za mjerenje vremena oscilacije (T), koji uređaj može konvertovati dajući direktno očitavanje gustine, ili se može koristiti za izračunavanje gustine pomoću konstante A i B.

Rezonantna frekvencija (f) je funkcija konstante opruge (c) i mase (m) sistema:

$$f^2 = \frac{1}{T^2} \equiv \frac{c}{m} \times \frac{1}{4\pi^2}$$

Oдавде slijedi:

$$T^2 = \left(\frac{M}{c} + \frac{\rho \times V}{c} \right) \times 4\pi^2$$

M = masa cijevi;

V = unutrašnja zapremina cijevi.

Uvođenje dvije konstante $A = c/(4\pi^2 + V)$ i $B = M/V$ dovodi do klasične jednačine za oscilirajući transduktor prikazan u izrazu:

$$\rho = A \times T^2 - B$$

Konstante A i B određuju se uređajem za gustinu kojim se U-cijev napuni s dva različita uzorka poznate gustine, na primjer, degazirana voda R i vazduh. Kontrolna mjerenja se provode na dnevnom nivou upotrebom degazirane vode R. Prikazani rezultati kontrolnih mjerenja sa degaziranom vodom R ne smiju odstupati od referentne vrijednosti ($\rho_{20} = 0,998203 \text{ g cm}^{-3}$, $d_{20}^{20} = 1,000000$) više od naznačene greške. Na primjer, uređaj naznačenog odstupanja $\pm 0,0001 \text{ g cm}^{-3}$ mora prikazati vrijednost $0,9982 \pm 0,0001 \text{ g cm}^{-3}$ kako bi bio prikladan za daljnja mjerenja. U suprotnom, potrebno je ponovno podešavanje uređaja. Kalibracija uređaja provodi se

redovno sa potvrđenim referentnim materijalima. Mjerenje se izvodi istom procedurom koja se koristi pri izvođenju postupka kalibracije. Ukoliko je potrebno, ispitivana tečnost se termostatira na 20°C prije uvođenja u cijev, kako bi se izbjeglo stvaranje mjehurića i skratilo vrijeme mjerenja.

Faktori koji utiču na tačnost mjerenja uključuju:

- ujednačenost temperature unutar cijevi;
- nelinearnost u rasponu gustine;
- efekte strane rezonance;
- viskoznost, pri čemu rastvori više viskoznosti u odnosu na sredstvo za kalibraciju imaju gustinu koja je prividno veća od stvarne vrijednosti.

Faktori nelinearnosti i viskoznosti mogu se izbjeći upotrebom sredstva za kalibraciju čije su gustina i viskoznost približno jednake ispitivanoj tečnosti ($\pm 5\%$ za gustoću, $\pm 50\%$ za viskoznost). Uređaj za gustinu može imati mogućnost automatske korekcije vrijednosti viskoznosti i korekcije greške koja proizlazi iz promjena temperature i nelinearnosti.

Preciznost je funkcija ponovljivosti i stabilnosti frekvencije oscilatora koja zavisi od stabilnosti zapremine, mase i konstante istežanja (opruge) ćelije.

Uređaji za gustinu mogu postići mjerenja sa greškom reda veličine od $1 \times 10^{-3} \text{ g cm}^{-3}$ do $1 \times 10^{-5} \text{ g cm}^{-3}$ i sa ponovljivošću od $1 \times 10^{-4} \text{ g cm}^{-3}$ do $1 \times 10^{-6} \text{ g cm}^{-3}$.

2.2.6. INDEKS REFRAKCIJE

01/2008:20206

Indeks refrakcije nekog medijuma u odnosu na vazduh jednak je odnosu sinusa ugla upadnog zraka svjetlosti u vazduhu i sinusa ugla prelomljenog zraka u datom medijumu.

Ukoliko nije drugačije propisano, indeks refrakcije mjeri se na $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$, propuštanjem D-linije natrijumovog spektra ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$); označava se sa n_D^{20} .

Refraktometri obično mjere granični ugao. Osnovni dio takvih uređaja je prizma poznatog indeksa refrakcije koja dolazi u dodir sa ispitivanom tečnošću.

Kalibrirati uređaj upotrebom sertifikovanih referentnih materijala.

Pri upotrebi bijele svjetlosti, refraktometar treba biti opremljen sistemom za kompenzaciju. Uređaj omogućava očitavanje sa tačnošću od najmanje tri decimalna mjesta i opremljen je za rad na propisanoj temperaturi. Termometar je podijeljen na intervale vrijednosti $0,5^\circ\text{C}$ ili manje.

2.2.25. APSORPCIONA SPEKTROFOTOMETRIJA, ULTRALJUBIČASTA I VIDLJIVA

01/2020:20225

PRINCIP

Ultraljubičasta i vidljiva (UV-VIS) spektroskopija (ili spektrofotometrija) je bazirana na sposobnosti atoma, molekula i jona da apsorbiraju svjetlost pri specifičnim talasnim dužinama u ultraljubičastom (približno 180–400 nm) i vidljivom (približno 400–800 nm) području. Ova apsorpcija se povezuje sa promjenama u

energetskim nivoima u obliku privremene tranzicije elektrona u pobuđeno stanje na višu energetsku orbitalu. Kako svaki energetski nivo molekule ili molekulskog jona ima udružene vibracione i rotacione podnivoje, ovo ima za rezultat mnoge dopuštene tranzicije koje su obično nemoguće za razdvojiti te zato proizvode apsorpcione trake prije nego oštre linije. Te trake su karakteristike funkcionalnih grupa i veza u molekuli.

UV-VIS spektroskopska mjerenja uključuju izlaganje uzorka svjetlu i mjerenje slabljenja i/ili rasijanja nastalog (transmitiranog ili reflektovanog) svjetla pri jednoj talasnoj dužini ili pri specificiranom talasnom području.

PRIMJENE

UV-VIS spektroskopija se tradicionalno koristi za kvantitativnu i kvalitativnu analizu tečnih uzoraka, ali je prikladna i za čvrste i gasovite uzorke i ima druge primjene kao npr. određivanje fizičkih ili hemijskih osobina.

UV-VIS spektroskopija, opisana u ovom poglavlju, može biti primijenjena na više načina:

kada se monografija ili opšte poglavlje odnosi na ovo poglavlje, zahtjevi opisani u relevantnim paragrafima ovog poglavlja su obavezni;

kada se koristi kao metoda detekcije u hromatografskim sistemima opisanim u opštem poglavlju 2.2.46, zahtjevi navedeni u relevantnim paragrafima ovog poglavlja su obavezni;

kada se koristi kao PAT (procesna analitička tehnologija) alat za PAT primjene slične primjenama opisanim u ovom poglavlju, odredbe se ovdje primjenjuju; za ostale PAT primjene principi su isti, ali se ipak kriteriji utvrđuju imajući u vidu namijenjenu svrhu analize, koristeći pristup baziran na riziku.

OPREMA

Spektrofotometri korišteni za provođenje mjerenja u UV-VIS području se obično sastoje od:

odgovarajućeg izvora svjetlosti (kao deuterijska lampa za UV područje, tungsten lampa za vidljivo područje ili ksenon lampa za pokrivanje cijelog UV-VIS područja), UV-VIS spektrofotometri često imaju 2 izvora;

monohromator kao sistem rešetki;

ostale optičke komponente, kao npr. leće ili ogledala, koje usmjeravaju svjetlo kroz instrument i koje mogu biti korištene da proizvode više od jednog snopa svjetlosti, npr. u spektrofotometrima sa dvostrukim snopom svjetlosti, za razliku od spektrofotometara sa jednim snopom svjetlosti;

spremnik uzorka, držač ili uređaj za uzorkovanje, primjeri uključuju konvencionalne kivete, sonde sa optičkim vlaknima i uronjene transmisijske ćelije (npr. kvarc ili safir visoke čistoće propustljiv za UV-VIS zračenje), izbor zavisi od namijenjene primjene dajući posebnu pažnju prikladnosti za vrstu uzorka koji će se analizirati;

jednokanalni (npr. fotomultiplikator, fotodiode) ili višekanalni detektor (npr. fotodiodni niz (PDA) ili napunjeni spojeni uređaj (CCD));

odgovarajući sistemi za kompjuterizovanu obradu podataka i evaluaciju.

Kontrola kiveta. Za stolne instrumente se koriste kivete ili ćelije sa definisanom dužinom optičkog puta. Mogu biti napravljene od različitih materijala kao što su kvarc ili staklo. Tolerancija za dužinu optičkog puta za kvarcne i staklene kivete je $\pm 0,5\%$ (npr. $\pm 0,0005$ cm za kivetu od 1 cm). Mogu se koristiti i plastične kivete, ali je za njih interval tolerancije širi i zbog toga njihova upotreba mora biti potpuno opravdana i bazirana na procjeni rizika.

Sljedeća metoda može biti korištena za provjeru čistoća zidova optičkih kiveta ili bilo kojih značajnih razlika u njihovoj debljini ili paralelizmu: napuni kivetu *vodom R* (pročišćenom vodom) i izmjeri vidljivu apsorbanu naspram zraka pri 240 nm za kvarcne kivete i 650 nm za staklene kivete; rotiraj kivetu za 180° u držaču i izmjeri vidljivu apsorbanu ponovo pri istoj talasnoj dužini.

Pri korištenju skenirajućih instrumenata preporučeno je da se skenira čitavo optičko područje od interesa.

Pri upotrebi spektrofotometara sa dvostrukim snopom svjetlosti trebaju se poduzeti

mjere (npr. podudaranje kiveta) da bi se obezbijedilo da bilo koje razlike između apsorpcije kiveta neće imati značajan uticaj na analizu.

Kriteriji prihvatljivosti:

prikazana apsorpcija nije veća od 0,093 za 1 cm kvarcnih kiveta (UV područje) i 0,035 za 1 cm staklenih kiveta (vidljivo područje);

apsorpcija izmjerena poslije rotacije (180°) se ne razlikuje više od 0,005 od prethodno dobijene vrijednosti.

MJERENJE

Način transmittance. Ovaj način omogućava mjerenje transmittance (T) na danoj UV-VIS talasnoj dužini uzorka postavljenog između izvora svjetlosti i detektora. Transmittanca je omjer intenziteta transmitirane svjetlosti i intenziteta ulazne svjetlosti, i odgovara sljedećoj jednačini:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

I = intenzitet transmitirane svjetlosti;

I_0 = intenzitet ulazne svjetlosti.

Spektar se može dobiti praćenjem promjena u transmittanci (T) ili apsorbanci (A) kao funkcije talasne dužine.

Apsorbanca je definisana kao logaritam sa bazom 10 recipročan transmittanci za monohromatsko zračenje. To je bezdimenzionalna vrijednost izražena u jedinicama apsorbance (AU), dana sljedećom jednačinom:

$$A = \log_{10}\left(\frac{1}{T}\right) = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

Prema Beer-Lambertovom zakonu, koji se odnosi na čiste razblažene otopine u odsustvu ometajućih fizičko-hemijskih faktora, apsorbanca (A) je proporcionalna dužini optičkog puta (l) zračenja kroz uzorak i koncentraciji (c) supstance u otopini u saglasnosti sa sljedećom jednačinom:

$$A = \epsilon cl$$

ϵ = molarni apsorpcioni koeficijent, u litrima po molu ili po centimetru;

C = molarna koncentracija supstance u otopini, u molovima po litru;

l = apsorpcioni optički put, u centimetrima.

Specifična apsorbanca ($A_{1\text{ cm}}^{1\text{ per cent}}$) supstance se najčešće koristi u monografijama i u vezi je sa apsorbancom (A) kako slijedi:

$$A = A_{1\text{ cm}}^{1\text{ per cent}} \times c_m \times l$$

c_m = masena koncentracija supstance u otopini, u gramima po 100 mililitara.

$A_{1\text{ cm}}^{1\text{ per cent}}$ predstavlja specifičnu apsorbanču otopljenje supstance i odnosi se na apsorbanču od 1 g/100 mL (ili 1% m/V) otopine u kiveti ili ćeliji od 1 cm i mjeri se pri određenoj talasnoj dužini.

Veza između $A_{1\text{ cm}}^{1\text{ per cent}}$ i ε je :

$$A_{1\text{ cm}}^{1\text{ per cent}} = \frac{10\varepsilon}{M_r}$$

M_r = relativna molekulska masa.

Mjerenja transmitance ili apsorbanče se obično koriste za tekućine (disperzije i otopine), ali se može koristiti i za čvrste tvari (uključujući tablete i kapsule). Za mjerenje čvrstih tvari se koristi odgovarajući dodatak za uzorak. Tečni uzorci se pregledavaju koristeći ćelije ili kivete sa odgovarajućom dužinom optičkog puta (obično 0,01–1 cm) i napravljene od materijala koji je propustljiv za UV-VIS zračenje, ili koristeći sondu od optičkih vlakana odgovarajuće konfiguracije utopljene u tečnost.

Difuzno refleksijska metoda. Ova metoda omogućava mjerenje refleksije (R), koja je dana sljedećom jednačinom:

$$R = \frac{I}{I_0}$$

I = intenzitet svjetla reflektovan i/ili raspršen od uzorka;

I_0 = intenzitet svjetla reflektovan i/ili raspršen od slijepe probe ili referentne reflektivne površine.

Zavisno od hemijskog sastava i fizičkih osobina uzorka, moguće je da se UV-VIS zračenje apsorbuje pri prolasku kroz uzorak. U difuznorefleksionoj metodi neapsorbovana radijacija koja se djelimično reflektovala i/ili raspršila o uzorak je ta koja se mjeri detektorom. UV-VIS refleksioni spektri se obično dobijaju proračunavanjem $\log_{10}(1/R)$ u funkciji talasne dužine.

Ova metoda se najčešće koristi za čvrste supstance. Uzorak se analizira u odgovarajućem uređaju (npr. držaču uzorka) ili u direktnom kontaktu sa probom. Za procesni monitoring materijal može biti analiziran kroz uglačanu prozorsku površinu (npr. kvarc ili safir) ili linijski koristeći sondu. Pažnja se mora obratiti da se obezbijedi da uslovi mjerenja budu reproducibilni koliko je moguće od jednog uzorka do drugog.

Rukovanje opremom. Faktori navedeni niže imaju uticaj na spektar i moraju se uvijek uzeti u obzir.

Izaberi metodu mjerenja koja je prikladna za namijenjenu aplikaciju i vrstu uzorka.

Definiši uslove mjerenja uzimajući u obzir veličinu uzorka i sondu za uzorkovanje na način da bi se obezbijedio zadovoljavajući odnos signala i šuma (npr. veličina snopa, vrijeme mjerenja i broj mjerenja). Za spektrofotometar sa opcijom skeniranja takođe odaberi domet skeniranja, brzinu skeniranja i širinu proreza koji omogućavaju potrebnu optičku rezoluciju za namijenjenu aplikaciju bez gubitka odnosa signala i šuma ili linearnosti analitičke metode. Kada se koristi spektrofotometar sa fotodiodnim nizom, nema potrebe za namještanjem veličine snopa, raspona skeniranja, brzine skeniranja i širine proreza jer je optička rezolucija obično fiksirana i cijeli spektar se snima.

Prije nego što se izvede mjerenje apsorbanče, nulta pozicija apsorpcije (korekcija osnovne linije) trebala bi biti određena za talasne dužine od interesa ili preko odgovarajućih dometa talasnih raspona.

Za PAT primjene, kada se mjere pomični materijali ili uzorci, obezbijediti da nema prljanja senzora (npr. kontaminacija ili nakupljanje materijala).

Osim ako nije drugačije propisano u monografiji, izmjeri apsorbanču koristeći dužinu optičkog puta od 1 cm na propisanoj talasnoj dužini. Ako je data pojedinačna vrijednost za apsorpcioni maksimum ili minimum u

monografiji, korisnik mora odrediti poziciju talasne dužine. Dobivena vrijednost se može razlikovati ne više od ± 2 nm, osim ako nije drugačije propisano.

Kvantitativna mjerenja koja se oslanjaju na apsorpcione vrijednosti iznad 2,0 trebalo bi izbjegavati.

Pozadinska korekcija. Odaberi odgovarajuću spektroskopsku slijepu probu (npr. zrak, otapalo ili čvrsti materijal). Osim ako nije drugačije propisano, sva mjerenja se izvode u odnosu na isto otapalo ili istu mješavinu otapala (slijepu probu).

Izmjeri slijepu probu i uzorak unutar kratkog vremena ili paralelno u spektrofotometru sa duplim snopom ili sekvencijalno u spektrofotometru sa jednim snopom. Vrijednosti apsorbance za slijepu probu i uzorak moraju biti unutar radnog opsega za uređaje kako je specificirano od proizvođača.

Za stolne instrumente apsorpcija otapala mjerena u odnosu na zrak na propisanoj talasnoj dužini ne smije biti viša od 0,4, a poželjno manja od 0,2.

Za hromatografske sisteme transmitanca mobilne faze može se koristiti kao slijepa proba.

U nekim PAT primjenama može biti da je nemoguće ukloniti sondu za pozadinsko prikupljanje podataka. Zbog toga se mogu različite opcije uzeti u razmatranje, uključujući upotrebu internih referenci, mjerenje slijepe probe koristeći drugi detektor itd. Samo spektri izmjereni u odnosu na slijepu probu koja posjeduje iste optičke osobine mogu biti direktno uspoređivani jedni sa drugim.

Za mjerenja reflektanse česti uzorci slijepe probe uključuju keramiku, fluoropolimere kao politetrafluoroetilen (PTFE) i praškove kao barijum sulfat (BaSO_4) i magnezijum oksid (MgO), ali se mogu koristiti i drugi odgovarajući materijali.

MATEMATIČKI POSTUPAK SA SPEKTRALNIM PODACIMA

U slučaju da se koncentracija nepoznatog uzorka određuje sa jednom talasnom dužinom (npr. kako je propisano u monografiji), matematički tretman se sastoji od određivanja regresije fotometrijskog očitavanja (apsorbance) na koncentracijama uzoraka.

U slučaju očitavanja sa spektrom cijelog raspona, podaci difuzione refleksije i transmisije trebaju se tretirati prije klasifikacije ili razvoja kalibracionog modela. Cilj može biti npr. da se smanji pomjeranje osnovne linije ili da se koriguje raspršivanje uzrokovano promjenama u veličini čestica čvrstih uzoraka. Npr. prva, druga ili višeg reda derivacija spektra mogu se koristiti da se poboljša rezolucija ili osjetljivost. Ovakav predtretman može biti koristan za pojednostavljivanje podataka i smanjivanje varijacija koje mogu uzrokovati interferencije u primijenjenim matematičkim modelima.

Moguće je koristiti širok opseg podešavanja metoda, kao što su skaliranje, zaglađivanje, normalizacija i derivacija, pojedinačno ili u kombinaciji. Više informacija je dostupno u opštem poglavlju 5.21. *Primjena hemometrijskih metoda na analitičke podatke.*

KONTROLA PERFORMANSI OPREME

Performanse spektrofotometra se kontrolišu (automatski ili manuelno) u redovnim intervalima kako je definirano u sklopu sistema upravljanja kvalitetom, shodno upotrebi opreme. Npr. oprema koja se koristi za mjerenje vlage i temperature treba češće provjere performansi.

Zahtjevi za kontrolu opreme koja se koristi za različite vrste mjerenja sumirani su u Tabeli 2.2.25.-1. Ukoliko je prihvatljivo, dalji slični testovi se mogu koristiti.

Tačnost talasnih dužina, tačnost apsorbanci i linearnost se kontrolišu koristeći sertifikovane referentne materijale u obliku čvrstih ili tečnih filtera u adekvatno zatvorenim ćelijama ili sa otopinama pripremljenim u laboratoriji na ispod opisan način.

Tabela 2.2.25.-1. Minimum testova koji trebaju biti provedeni za kontrolu performansi opreme

Svrha	Metoda	Preciznost (tačnost) talasne dužine	Preciznost (tačnost) apsorbance	Fotometrijska linearnost	Raspršena svjetlost	Rezolucija/ spektralna širina pojasa
Kvantitativni ili limit test	Bazirana na mjerenju apsorbance na jednoj ili više identifikovanih talasnih dužina (npr. proba ili test nečistoća)	x	x	x	x	Ako se zahtijeva u monografiji
	Bazirana na talasnim dužinama apsorpcionih maksimuma i minimuma	x	-	-	x	-
Identifikacioni test	Bazirana na mjerenju apsorpcije i talasnoj dužini apsorpcionog maksimuma	x	x	-	x	-
	Bazirana na uspoređivanju spektra sa spektrom referentne supstance	x	x	-	-	

KONTROLA TAČNOSTI TALASNIH DUŽINA

Kontroliši tačnost talasnih dužina odgovarajućeg broja apsorpcionih traka u spektralnom rasponu koristeći jedan ili više referentnih materijala, npr. koristi čvrsti ili tečni filter (npr. otopina *R holmijum perhlorata*) da se verifikuje pozicija apsorpcionih traka ili da se izmjeri emisija svjetlosnog izvora i provjeri pozicija emisione linije. Tabela 2.2.25.-2. sadrži primjere talasnih dužina koji se koriste za provjeru tačnosti talasnih dužina. Kada se koriste certifikovani referentni materijali, referentna talasna dužina je ona koja je propisana na pripadajućem certifikatu.

Neki instrumenti imaju automatsku ili ugrađenu opciju provjere tačnosti talasnih dužina.

Tabela 2.2.25.-2. Primjeri talasnih dužina korištenih za kontrolu tačnosti talasnih dužina

Napomena: talasna dužina varira sa rezolucijom instrumenta.

Materijal		Talasne dužine (nm)
Otopine	Cerijum u sulfatnoj kiselini	201.1; 211.4; 222.6; 240.4; 253.7
	Didimijum u perhlornoj kiselini	511.8; 731.6; 794.2; 241.1; 287.2; 361.3; 451.4;
	Holmijum u perhlornoj kiselini	485.2; 536.6; 640.5;
Čvrsti filteri	Didimijum staklo	513.5
	Holmijum staklo	279.3; 360.9; 453.4; 637.5
Lampe	Deuterijum	486.0; 656.1
	Živa (nizak pritisak)	184.9; 253.7; 312.5; 365.0; 404.7; 435.8; 546.1; 577.0; 579.1
	Neon	717.4
	Ksenon	541.9; 688.2; 764.2

Za hromatografske sisteme takođe je moguće izvršiti provjeru tačnosti talasnih dužina mjerenjem apsorbance 0,05 mg/mL otopine *kofeina R* u *metanolu R*; apsorpcioni maksimum je na 272 nm, a minimum na 244 nm.

Kriterij prihvatljivosti

Preporučeno je da se izvrši provjera najmanje dvije talasne dužine koje obuhvataju korišteni spektralni raspon.

Za instrumente koji se koriste u laboratorijama, za UV-VIS spektrofotometriju sa kivetama, toleriše se ± 1 nm za talasne dužine ispod 400 nm i ± 3 nm za 400 nm i iznad.

Za hromatografske sisteme toleriše se ± 2 nm za cijeli UV-VIS opseg.

Za PAT aplikaciju toleriše se ± 2 nm za UV-VIS opseg. Ipak, nekada je potreban širi interval za pojedine PAT aplikacije. U tom slučaju zahtijevana tačnost talasnih dužina treba da bude definisana od strane korisnika zavisno od namjene i uz korištenje analize rizika.

Parametri instrumenta (naročito ulazna optika kao što je širina proreza ili dijametar optičkih vlakana) utiču na rezoluciju i moraju da budu isti kao i oni namijenjeni za mjerenja u praksi.

Kontrola tačnosti apsorbanci

Kontrola tačnosti apsorbanci na odgovarajućem broju talasnih dužina u odgovarajućem spektralnom rasponu vrši se koristeći odgovarajuće čvrste ili tečne filtere za provjeru apsorbance izmjerene na talasnoj dužini koja odgovara certifikovanoj apsorbanci filtera ili apsorpcijskoj vrijednosti koja se izračuna iz certifikovane specifične apsorbance. Može se koristiti *nikotinska kiselina za kvalifikaciju opreme CRS*.

Preporučeno je testirati tačnost apsorbance na odabranim talasnim dužinama koristeći jedan ili više čvrstih ili tečnih filtera sa različitim apsorpcionim nivoima; kao minimum, treba da se provjere vrijednosti na približno 2 limita u odnosu na očekivanu vrijednost apsorpcionog raspona.

Za hromatografske sisteme i PAT aplikaciju provjeravanje apsolutne tačnosti apsorpcije nije neophodno ukoliko se obezbijedi da je izvršeno mjerenje standardne krive, kako je i zahtijevano.

Za mjerenja koristeći *nikotinsku kiselinu za kvalifikaciju opreme CRS* potvrđena specifična apsorbancia je data u pripadajućem letku.

Otopina nikotinske kiseline se može pripremiti na sljedeći način: otopiti 57,0–63,0 mg *nikotinske kiseline za kvalifikaciju opreme CRS* u otopini 0,1 M hlorovodonične kiseline pripremljene od *hlorovodonične kiseline R* i razblažiti do 200,0 mL istom otopinom kiseline; razblažiti 2,0 mL otopine do 50,0 mL istom otopinom kiseline da bi se dobila konačna koncentracija od 12 mg/L. Ovi volumeni se mogu podešavati da bi se dobile otopine nikotinske kiseline drugih koncentracija (do otprilike 40 mg/L), za namjene testiranja drugih nivoa apsorbance. Apsorbancia se mjeri na 213 nm i 261 nm.

Kriteriji prihvatljivosti

Razlika izmjerene apsorbance i apsorbance certifikovanog materijala je $\pm 0,010$ ili $\pm 1\%$, šta god da je veće, za svaku kombinaciju talasne dužine procijenjene apsorbance (primjenjuje se za vrijednosti apsorbance ne veće od 2). Tolerancije za veće vrijednosti apsorbance bi trebalo da budu definisane na bazi procjene rizika.

Kontrola fotometrijske linearnosti. Kontrolisati fotometrijsku linearnost u namijenjenom spektralnom rasponu. U ultraljubičastom području filteri korišteni za kontrolu preciznosti apsorbance se mogu koristiti, ali mogu i otopine nikotinske kiseline ili kofeina. U vidljivom području se mogu koristiti neutralni stakleni filteri. Prije izvođenja testa treba obezbijediti da je apsorbancia standarda kompatibilna sa namijenjenim linearnim područjem (dometom).

Otopine sa rastućim koncentracijama (npr. 5–40 mg/L) *nikotinske kiseline za kvalifikaciju opreme CRS* u 0,1 M otopini hlorovodonične kiseline pripremljene od *hlorovodonične kiseline R* je moguće koristiti. Apsorbancia se mjeri na 213 nm i 261 nm.

Za hromatografske sisteme moguće je provjeriti fotometrijsku linearnost koristeći 0,5–50 mg/L otopine *kofeina R* u *vodi za hromatografiju R*. Apsorbancia se mjeri na 273 nm.

Kriterij prihvatljivosti

Koeficijent determinacije (R^2) nije manji od 0.999.

Limit raspršene svjetlosti. Raspršena svjetlost se određuje na odgovarajućoj talasnoj dužini koristeći odgovarajuće čvrste ili tečne filtere ili vlastite otopine. Parametri instrumenta korištenog za ovaj test, kao širina proreza i tip izvora svjetlosti (npr. deuterijum ili tungsten lampa), moraju biti isti kao oni namijenjeni za stvarna mjerenja.

Kriterij prihvatljivosti

Kriterij prihvatljivosti zavisi od korištenih filtera ili otopina, npr.:

- apsorbanca nije manja od 3,0 pri upotrebi 10 g/L otopine *natrijum jodida R* pri 220 nm, 10 g/L otopine *kalijum jodida R* pri 250 nm ili 50 g/L otopine *natrijum nitrita R* na 340 nm i 370 nm;
- apsorbanca nije manja od 2,0 pri upotrebi 12 g/L otopine *kalijum hlorida R* na 198 nm.
- Ove vrijednosti se primjenjuju kada se koristi ćelija od 1 cm i voda R kao kompenzacijska tečnost.

Kontrola rezolucije. Gdje je propisano u monografiji, izmjerite rezoluciju opreme ili korištenjem odgovarajućeg certifikovanog referentnog materijala ili snimanjem spektra 0,02% V/V otopine *toluena R* u heksanu R ili *heptanu R*, uz *heksan R* ili *heptan R* kao kompenzacijsku tečnost.

Kriterij prihvatljivosti

Za mjerenja provedena sa otopinom pripremljenom kao što je gore navedeno minimalni omjer apsorbanca na maksimumu (269 nm) u odnosu na minimum (266 nm) je naznačen u monografiji.

PRIKLADNOST SISTEMA

Testovi prikladnosti sistema mogu biti potrebni prije mjerenja uzroka da bi se provjerili kritični parametri koji mogu imati uticaj na rezultat.

Ovi testovi mogu uključivati preciznost talasne dužine, preciznost apsorbanca, raspršeno svjetlo i fotometrijsku linearnost. Testovi funkcionalnosti sistema, kao na primjer oni izvođeni kao dio autotestiranja opreme, mogu se smatrati testovima prikladnosti sistema.

U slučaju UV-VIS detekcije za hromatografske sisteme primjenjuju se dodatni testovi prikladnosti sistema ako su propisani u monografiji i/ili opštem poglavlju 2.2.46. *Hromatografske separacione tehnike*.

2.2.27. HROMATOGRAFIJA NA TANKOM SLOJU (TLC)

01/2008:20227

Hromatografija na tankom sloju (engl. *Thin-Layer Chromatography* – TLC) je metoda razdvajanja (separaciona tehnika) u kojoj je stacionarna faza sastavljena od prikladnog materijala koji je u ujednačenom sloju nanosen na nosač (ploču) od stakla, metala ili plastike. Rastvori analita nanose se na ploču prije razvijanja. Proces razdvajanja se zasniva na adsorpciji, raspodjeli, izmjeni jona ili kombinaciji ovih mehanizama, a odvija se kretanjem (razvijanjem) rastvora (rastvor analita) u odgovarajućem rastvaraču ili smješi rastvarača (mobilnoj fazi) na tankom sloju (stacionarna faza).

APARATURA

Ploče. Hromatografija se izvodi na gotovim pločama (prethodno nanosen sloj stacionarne faze) kao što je opisano u poglavlju *Reagensi* (4.1.1).

Priprema ploča prije upotrebe. Po potrebi, a prije postupka razdvajanja, ploče se mogu isprati upotrebom prikladnog rastvarača. Ploče mogu biti impregnirane i postupcima poput razvijanja, uranjanja ili prskanja. Ako je potrebno, prilikom upotrebe ploče se mogu aktivirati postupkom zagrijavanja na 120°C u trajanju od 20 minuta.

Hromatografske kade predstavljaju posude sa ravnim dnom (sa jednostrukim ili dvostrukim koritom), od inertnog, prozirnog materijala, prikladnih veličina za ploče koje se koriste i sa čvrsto prijanjajućim poklopcem. Za horizontalno razvijanje TLC ploča hromatografska kada je opremljena posebnim koritom za mobilnu fazu i dodatno sadrži dio aparature za usmjeravanje mobilne faze na stacionarnu fazu.

Mikropipete, mikrošprice, jednokratne kalibrisane kapilare ili drugi pribor za nanošenje predstavljaju odgovarajuća sredstva za pravilno nanošenje ispitivanog rastvora.

Uređaj za detekciju fluorescencije koristi se za mjerenje direktne fluorescencije ili za mjerenje inhibicije/gušenja fluorescencije.

Uređaj za vizualizaciju i reagensi. Za derivatizaciju se koriste prikladni uređaji za prenos reagenasa na ploču, uranjanje ili izlaganje parama. Kada je primjenjivo, koristi se zagrijavanje TLC ploča u svrhu lakše vizualizacije razdvojenih jedinjenja.

Dokumentacija. U svrhu dokumentovanja vizualiziranog hromatograma može se koristiti odgovarajući uređaj koji bi obezbijedio dobijanje fotografije ili računarske datoteke.

METODA

Nanošenje uzorka. Propisana zapremina ispitivanih rastvora nanosi se na liniju koja je paralelna sa donjim rubom ploče, a nalazi se na prikladnoj udaljenosti od donjeg ruba i bočnih strana ploče. Nakon nanošenja međusobno rastojanje između centara mrlja nanosenih u tački ne smije biti manje od 10 mm (5 mm na hromatografskim pločama visoke efikasnosti) i 5 mm (2 mm na pločama visoke efikasnosti) između rubova mrlja nanosenih u liniji. Ispitivani rastvor se nanosi u dovoljno malim količinama da bi se dobile okrugle mrlje veličine 2–5 mm u promjeru (1–2 mm na pločama visoke efikasnosti) ili linije dužine 10–20 mm (5–10 mm na pločama visoke efikasnosti) i debljine 1–2 mm.

Ako je u monografiji navedeno da se smiju koristiti i obične ploče i ploče visoke efikasnosti (engl. *High Performance Thin Layer Chromatographic plate* – HP-TLC ploče), radni uslovi za ploče visoke efikasnosti navedeni su u zagradama [] iza navoda za obične ploče.

Vertikalno razvijanje. Unutrašnji zidovi hromatografske kade oblože se filter-papirom. U hromatografsku kadu ulije se dovoljna količina mobilne faze koja je prilagođena veličini kade. Nakon impregniranja filter-papira, u kadi mora ostati sloj mobilne faze odgovarajuće dubine s obzirom na dimenziju ploče koja će se koristiti. Zasićenje hromatografske kade vrši se 1 sat na 20–25°C. Ako nije drugačije navedeno u monografiji, hromatografsko razdvajanje provodi se u zasićenoj kadi. Nanesu se propisane zapremine ispitivanih rastvora kako je ranije opisano. Kada ispari rastvarač iz nanosenih mrlja sa ploče, ploča se postavi vertikalno u hromatografsku kadu (što je moguće uspravnije), pazeći pritom da nanosene mrlje ostanu iznad površine mobilne faze. Hromatografska kada se zatvori, te ostavi na temperaturi 20–25°C, zaštićena od sunčeve svjetlosti. Kada mobilna faza pređe propisano rastojanje, mjereno od mjesta nanošenja do fronta rastvarača, ploča se izvadi iz kade. Ploča se osuši i vrši se vizuelizacija hromatograma, kao što je opisano.

U dvodimenzionalnoj hromatografiji TLC ploče se osuše nakon prvog razvijanja, a zatim se provede drugo razvijanje u smjeru okomitom na smjer prvog razvijanja.

Horizontalno razvijanje. Na TLC ploču se nanesu propisane zapremine ispitivanih rastvora, kako je već ranije opisano. Kad rastvarač ispari iz nanosenih mrlja, u korito komore se upotrebom šprice ili pipete uvede dovoljna količina mobilne faze. Nakon potvrde da se nalazi u vodoravnom položaju, u komoru se postavi ploča koja se spoji sa uređajem za usmjeravanje protoka mobilne faze prema uputama proizvođača opreme. Ukoliko je propisano, ploča se razvija počevši istovremeno s oba kraja. TLC kada se zatvori i ostavi na temperaturi 20–25°C. U momentu kad mobilna faza pređe propisanu udaljenost koja je navedena u monografiji, ploča se izvadi iz kade. Ploča se osuši i vrši se vizuelizacija hromatograma, kao što je opisano.

U dvodimenzionalnoj hromatografiji TLC ploče se osuše nakon prvog razvijanja, a zatim se provede drugo razvijanje u smjeru okomitom na smjer prvog razvijanja.

VIZUELNA PROCJENA

Identifikacija. Glavna mrlja na hromatogramu ispitivanog rastvora vizuelno se upoređuje sa odgovarajućom mrljom na hromatogramu poredbenog rastvora. Upoređuju se boja, veličina i retencioni faktor (R_f) obje mrlje.

Retencioni faktor (R_f) definiše se kao odnos udaljenosti od mjesta nanošenja (*start*) do središta mrlje i udaljenosti koju je prešao rastvor/mobilna faza od mjesta nanošenja do *fronta*.

Potvrda sposobnosti razdvajanja za identifikaciju. U normalnim uslovima je dovoljna provjera testa pogodnosti koji je opisan u Evropskoj farmakopeji u poglavlju *Reagensi* (4.1.1). Samo u posebnim slučajevima u monografiji opisani su dodatni kriteriji za ispitivanje pogodnosti sistema.

Test za srodne supstance. Sekundarna(e) mrlja(e) na hromatogramu ispitivanog rastvora vizuelno se upoređuje(u) ili s odgovarajućom(im) mrljom(ama) na hromatogramu koja potiče od referentnog rastvora koji sadrži onečišćenje(a) ili sa mrljom na hromatogramu od referentnog rastvora pripremljenog razblaživanjem testnog rastvora.

Potvrda sposobnosti razdvajanja. Zahtjevi za potvrdu sposobnosti razdvajanja opisani su u odgovarajućoj monografiji.

Potvrda sposobnosti detekcije. Sposobnost detekcije je zadovoljavajuća ako je mrlja ili crta jasno vidljiva na hromatogramu najrazrjeđenijeg referentnog rastvora.

KVANTITATIVNO MJERENJE

Zahtjevi za rezoluciju i razdvajanje su propisani u pojedinačnoj monografiji. Supstance razdvojene hromatografijom na tankom sloju, a koje apsorbuju UV-VIS zračenje, mogu se odrediti direktno na TLC ploči korištenjem odgovarajućeg instrumenta. Dok se u instrumentu pomjera ploča ili mjerni dio instrumenta, mjeri se refleksija upadnog svjetla. Slično, fluorescencija može biti mjerena korištenjem odgovarajućeg optičkog sistema. Kod supstanci koje sadrže radionuklide kvantitativna analiza se može uraditi na 3 načina: direktno pomjerenjem ploče duž podesnog brojača (vidjeti poglavlje u Evropskoj farmakopeji *Radiofarmaceutski preparati (0125)*), rezanjem ploča u trake te mjerenjem radioaktivnosti pojedinih traka podesnim brojačem ili struganjem stacionarne faze, rastvaranjem u podesnom koktelu za scintilaciju i mjerenjem radioaktivnosti tečnim scintilacionim brojačem.

Aparatura. Aparat za direktno mjerenje na pločama se sastoji od više dijelova:

- dio za tačno pozicioniranje i reproducibilno nanošenje uzoraka na ploču;
- mehanički dio za pomicanje ploče ili mjerni uređaj uzduž x ili y ose;
- uređaj za bilježenje i podesan integrator ili kompjuter;
- za supstance koje apsorbuju u UV-VIS području: fotometar sa izvorom svjetlosti, optički uređaj koji može da generiše monohromatsku svjetlost i fotoćelija odgovarajuće osjetljivosti se koriste za mjerenje refleksije ili transmisije; ukoliko se mjeri fluorescencija, potreban je podesan filter koji će spriječiti ekscitiranoj svjetlosti, a omogućiti emitovanoj svjetlosti prolaz do detektora;
- za supstance koje sadrže radionuklide potreban je podesan brojač radioaktivnosti. Linearno područje rada brojača mora biti verifikovano.

Metoda. Pripremi se rastvor ispitivane supstance (testni rastvor) kao što je propisano u monografiji i, ukoliko je potrebno, pripremi se referentni rastvor supstance koja se određuje uz upotrebu istog rastvarača kao za testni rastvor. Na ploču se nanese jednake zapremine svakog od navedenih rastvora i ploča se razvija.

Supstance koje apsorbuju UV-VIS zračenje. Pripreme se i nanese minimalno 3 referentna rastvora supstance koja se određuje, a čija koncentracija odgovara očekivanoj vrijednosti koncentracije testnog rastvora (oko 80%, 100% i 120%). Tretira se propisanim reagensom, ukoliko je potrebno, i izmjeri refleksija, transmisija ili fluorescencija na hromatogramima testnog i referentnog rastvora. Izmjerene vrijednosti se koriste za izračunavanje količine supstance u testnom rastvoru.

Supstance koje sadrže radionuklide. Pripremi se i nanese testni rastvor koji sadrži oko 100% očekivane vrijednosti. Odredi se radioaktivnost u funkciji dužine puta i prijavi radioaktivnost svakog dobijenog pika kao postotak ukupne vrijednosti radioaktivnosti.

Kriteriji za procjenu pogodnosti sistema opisani su u Evropskoj farmakopeji u poglavlju *Hromatografske separacione tehnike (2.2.46)*. U navedenom poglavlju su definisani kriteriji za izmjenu pojedinih parametara hromatografskog sistema, kako bi se ispunili zahtjevi za pogodnost sistema.

2.2.29. TEČNA HROMATOGRAFIJA

01/2021:20229

PRINCIP

Tečna hromatografija (LC) je metoda hromatografskog razdvajanja koja se zasniva na razlici u raspodjeli vrsta između dvije faze koje se ne miješaju, u kojoj je mobilna faza tečnost koja prolazi kroz stacionarnu fazu u koloni.

LC se uglavnom zasniva na mehanizmima adsorpcije, raspodjeli mase, izmjeni jona, raspodjeli prema veličini čestica ili stereohemijskim interakcijama.

Ako nije drugačije naznačeno, sve informacije date u nastavku vrijede za standardni LC i LC koji koristi kolone punjene česticama smanjene veličine (npr. ispod 2 μm).

Posljednji navedeni zahtijeva aparaturu koja je sposobna izdržati veće pritiske (obično do 100 MPa, tj. oko 15 000 psi), generiše niže širenje baze pika, osigurava poboljšano gradijentno miješanje i omogućava veću brzinu uzorkovanja u sistem detekcije.

OPREMA

Oprema se obično sastoji od:

- sistema za pumpanje;
- injektora;
- hromatografske kolone (može se koristiti regulator temperature kolone);
- 1 ili više detektor(a);
- sistem za prikupljanje podataka.

Mobilna faza se osigurava iz jednog ili više rezervoara i pumpa se do injektora, zatim kroz kolonu, obično konstantnom brzinom, a zatim kroz detektor(e).

SISTEMI ZA PUMPANJE

LC sistemi za pumpanje isporučuju mobilnu fazu sa kontrolisanim protokom. Fluktuacije pritiska treba svesti na minimum, naprimjer propuštanjem otapala pod pritiskom kroz uređaj za prigušivanje impulsa. Cijevi i priključci mogu podnijeti pritiske koje razvija sistem pumpanja. LC pumpe mogu biti opremljene uređajem za „odražavanje“ sistema zarobljenih mjehurića zraka.

Mikroprocesorski kontrolisani sistemi za pumpanje sposobni su za tačno isporučivanje mobilne faze bilo konstantnog (izokratsko eluiranje) ili promjenljivog sastava (gradijentno eluiranje), u skladu sa definisanim programom. U slučaju gradijentnog eluiranja, dostupni su sistemi za pumpanje koji isporučuju rastvarač(e) iz nekoliko rezervoara, a miješanje rastvarača može se postići na strani pumpe(i) sa niskim ili visokim pritiskom.

INJEKTORI

Rastvor uzorka uvodi se u tekuću mobilnu fazu na ili u blizini ulaza kolone pomoću sistema za ubrizgavanje koji može raditi pod visokim pritiskom. Koriste se uređaji sa fiksnom petljom i promjenljivom zapreminom kojima se upravlja manuelno ili pomoću automatskog uzorkovanja. Djelimično punjenje petlji tokom ručnog ubrizgavanja može negativno uticati na preciznost zapremine injiciranja.

STACIONARNE FAZE

Postoje mnoge vrste stacionarnih faza koje se koriste u LC-u, uključujući:

- silicijum dioksid ili aluminijum oksid, koji se obično koriste u LC normalnih faza (polarna stacionarna faza i nepolarna mobilna faza), pri čemu se razdvajanje temelji na razlikama u adsorpciji na stacionarnoj fazi i/ili raspodjeli mase između mobilne faze i stacionarne faze (particiona hromatografija);
- raznovrsne hemijske modifikovane nosače napravljene od polimera, silicijum dioksida ili poroznog grafit, koji se koriste u normalnoj fazi i reverznoj fazi LC (nepolarna stacionarna faza i polarna mobilna faza), gdje se razdvajanje zasniva uglavnom na raspodjeli molekula;
- smole ili polimere sa kiselim ili baznim grupama, korištene u jonskoj hromatografiji, gdje se razdvajanje zasniva na kompeticiji između jona koji se separiraju i onih u mobilnoj fazi;
- porozni silicijum dioksid ili polimere, koji se koriste u ekskluzionj hromatografiji (2.2.30), gdje se razdvajanje zasniva na sterički uslovljenim razlikama između zapremina molekula;
- specijalno modifikovane stacionarne faze, npr. derivate celuloze ili amiloze, proteine ili peptide, ciklodekstrine itd., za razdvajanje enantiomera (hiralna hromatografija).

Većina razdvajanja temelji se na LC reverznoj fazi koja koristi hemijski modifikovani silicijum dioksid kao stacionarnu fazu. Površina nosača, tj. silanolne grupe silicijum dioksida, reaguju s različitim silanskim reagensima praveći kovalentno vezane silil derivate koji pokrivaju varijabilan broj aktivnih mjesta na površini nosača. Priroda vezane faze važan je parametar za određivanje osobina razdvajanja hromatografskog sistema.

Ako proizvođač nije drugačije naveo, kolone reverzne faze na bazi silicijum dioksida smatraju se stabilnim u mobilnim fazama sa prividnim pH u rasponu od 2,0 do 8,0. Kolone koje sadrže porozni grafit ili čestice polimernih materijala kao što je kopolimer stiren-divinilbenzen stabilne su u širem rasponu pH.

U određenim slučajevima primjenjiva je analiza sa LC normalnih faza sa nemodifikovanim silicijum dioksidom ili polarnim hemijski modifikovanim silicijum dioksidom (npr. cijanopropil ili diol) kao stacionarnom fazom sa nepolarnom mobilnom fazom.

Za analitička razdvajanja veličina čestica najčešće korištenih stacionarnih faza varira između 2 i 10 μm . Čestice mogu biti sferne ili nepravilne, različite poroznosti i specifične površine. Ova svojstva doprinose hromatografskom ponašanju određene stacionarne faze. U slučaju reverznoj fazi, priroda stacionarne faze, opseg vezivanja, npr. izraženo kao opterećenje ugljenikom, i da li je stacionarna faza silicijum dioksid modifikovanih krajeva (*endcapped*, tj. dio preostalih silanolnih grupa je siliran) dodatni su odlučujući faktori. Završno razvlačenje pikova, posebno baznih supstanci, može se desiti kada su prisutne rezidualne silanolne skupine.

Pored poroznih čestica, mogu se koristiti površinski porozni ili monolitni materijali.

Ako u monografiji nije drugačije propisano, za analitičku hromatografiju koriste se kolone od nehrđajućeg čelika varijabilne dužine i unutrašnjeg promjera (\emptyset). Kolone sa unutrašnjim prečnikom manjim od 2 mm često se nazivaju mikroborne kolone.

Temperatura mobilne faze i kolone mora se održavati konstantnom tokom analize. Temperatura kolone može biti specificirana u monografiji, za postizanje optimalnih performansi, ali većina razdvajanja vrši se na temperaturi 20–25°C.

MOBILNE FAZE

Za LC normalne faze uglavnom se koriste organski rastvarači niske polarnosti. Sadržaj rezidualne vode u rastvaračima koji se koriste u mobilnoj fazi mora se strogo kontrolisati kako bi se dobili ponovljivi rezultati.

U LC reverznoj fazi koriste se vodene mobilne faze, obično sa organskim rastvaračima i/ili modifikatorima.

Komponente mobilne faze obično se filtriraju kako bi se uklonile čestice veće od 0,45 μm (ili veće od 0,2 μm kada je stacionarna faza izrađena od čestica ispod 2 μm i kada se koriste posebni detektori, npr. detektori rasipanja svjetlosti). Višekomponentne mobilne faze pripremaju se mjerenjem potrebnih volumena (osim ako nisu naznačene mase) pojedinačnih komponenti, nakon čega slijedi miješanje. Alternativno, otapala se mogu isporučivati

pomoću pojedinačnih pumpi koje se kontrolišu proporcionalnim ventilima, pomoću kojih se miješanje vrši prema željenom omjeru. Otapala se prije pumpanja redovno degasificiraju helijumom, ultrazvukom i/ili upotrebom linijskih membranskih/vakuum modula kako bi se izbjeglo stvaranje mjehurića gasa u ćeliji detektora.

Otapala za pripremu mobilne faze obično nemaju stabilizatore i, ako se koristi ultraljubičasti detektor, prozirna su na talasnoj dužini detekcije. Rastvarači i druge komponente koje se koriste moraju biti odgovarajućeg kvaliteta. Konkretno, voda za hromatografiju R koristi se za pripremu mobilnih faza kada je voda ili vodena otopina jedna od komponenti. Sva potrebna podešavanja pH vrše se na vodenoj komponenti mobilne faze, a ne na mješavini. Ako se koriste puferske otopine ili otopine soli, provodi se odgovarajuće ispiranje sistema smjesom vode sa malim udjelom organskog dijela mobilne faze (5%, v/v) kako bi se spriječila kristalizacija soli nakon završetka analiza.

Mobilne faze mogu sadržavati i druge komponente, naprimjer kontrajon za hromatografiju jonskih parova ili hiralni selektor za hiralnu hromatografiju pomoću ahiralne stacionarne faze.

DETEKTORI

Ultraljubičasto vidljivi (UV-VIS) spektrofotometri (uključujući detektore sa nizom fotodioda) (2.2.25) najčešće su korišteni detektori. Fluorescentni spektrofotometri, diferencijalni refraktometri (RI), elektrohemijski detektori (ECD), detektori rasipanja svjetlosti, napunjeni detektori naelektrisanja u aerosolu (CAD), maseni spektrometri (MS) (2.2.43), detektori radioaktivnosti, višekutni detektori raspršene svjetlosti (MALS) ili drugi detektori mogu se koristiti.

POSTUPAK

Kondicionirajte kolonu sa propisanom mobilnom fazom i brzinom protoka na temperaturi 20–25°C ili na temperaturi navedenoj u monografiji sve dok se ne postigne stabilna bazna linija. Pripremite otopinu(e) supstance koja se ispituje i referentne otopine. Otopine ne smiju sadržavati čvrste čestice.

Kriteriji za procjenu prikladnosti sistema opisani su u opštem poglavlju 2.2.46. *Hromatografske separacione tehnike*. U ovom poglavlju je dat i opseg do kojeg se mogu izvršiti podešavanja parametara hromatografskog sistema kako bi se zadovoljili kriteriji prikladnosti sistema.

2.2.30. EKSKLUZIONA HROMATOLOGRAFIJA

01/2019:20230

PRINCIP

Ekskluziona hromatografija je tehnika tečne hromatografije (2.2.29) koja razdvaja molekule u otopini prema njihovoj veličini. S organskim mobilnim fazama, tehnika je poznata kao gel-propusna hromatografija, a sa vodenim mobilnim fazama poznata je kao gel-filtracijska hromatografija. Uzorak se unosi u kolonu koja je napunjena gelom ili materijalom za pakovanje poroznih čestica, a prenosi ga mobilna faza kroz kolonu. Separacija na osnovu veličine vrši se ponavljanim izmjenom molekula otopljenih supstanci između rastvarača mobilne faze i istog rastvarača u mirujućoj tečnoj fazi (stacionarna faza) unutar pora pakovnog materijala. Opseg veličina pora pakovnog materijala određuje raspon molekularne veličine unutar kojeg može doći do razdvajanja.

Molekule dovoljno male da prodru u sve pore eluiraju se pri ukupnom volumenu mobilne faze V_t (poznat i kao ukupni permeacioni volumen). Molekule koje su očigledno veće od maksimalne veličine pora pakovnog materijala migriraju duž kolone isključivo kroz prostor između čestica pakovnog materijala, bez sposobnosti da budu zadržane, i eluiraju se pri retencionom volumenu nezadržane komponente V_0 (poznate i kao ukupni permeacioni volumen). Razdvajanje prema molekularnoj veličini pojavljuje se između retencionog volumena nezadržane komponente i ukupnog volumena mobilne faze, a razdvajanje se obično događa u prve dvije trećine ovog raspona.

OPREMA

Oprema se u osnovi sastoji od hromatografske kolone različite dužine i unutrašnjeg promjera (\emptyset), sa kontrolom temperature po potrebi, napunjene materijalom za razdvajanje koji je sposoban za frakcioniranje u odgovarajućem rasponu molekularnih veličina. Pakovni materijal može biti mekani nosač kao što je nabubreni gel ili kruti nosač od materijala kao što su staklo, silicijum dioksid ili umreženi organski polimer kompatibilan sa rastvaračem. Kruti nosači obično zahtijevaju sisteme pod pritiskom koji daju brža razdvajanja. Jedan kraj kolone obično je opremljen prikladnim uređajem za nanošenje uzorka kao što je adapter protoka, špric kroz septum ili ventil za ubrizgavanje, a može biti povezan i sa odgovarajućom pumpom za kontrolu protoka eluenta. Alternativno, uzorak se može nanijeti direktno na dreniranu površinu sloja ili, ako je uzorak gušći od eluenta, može biti položen ispod eluenta.

Mobilna faza odabire se prema vrsti uzorka, separacionom medijumu i načinu detekcije. Eluent konstantnom brzinom prolazi kroz kolonu.

Izlaz iz kolone obično je povezan sa prikladnim detektorom opremljenim automatskim snimačem koji omogućava praćenje relativnih koncentracija odvojenih komponenti uzorka. Mogu se koristiti ultraljubičasto vidljivi spektrofotometri (2.2.25), diferencijalni refraktometri (RI), luminiscentni detektori, višekutni detektori raspršene svjetlosti (MALS) i drugi detektori. Ako je potrebno, može se priključiti automatski frakcioni kolektor.

POSTUPAK

Prije izvođenja razdvajanja pakovni materijal se tretira, a kolona se pakuje kako je opisano u monografiji ili prema uputama proizvođača.

Kriterijumi za procjenu prikladnosti sistema opisani su u opštem poglavlju 2.2.46. *Hromatografske separacione tehnike*. U ovom opštem poglavlju dat je i opseg do kojeg se mogu izvršiti podešavanja parametara hromatografskog sistema kako bi se zadovoljili kriterijumi prikladnosti sistema.

ODREĐIVANJE RELATIVNOG KOMPONENTNOG SASTAVA SMJESA

Provesti razdvajanje kako je navedeno u monografiji. Ako je moguće, kontinuirano pratiti eluciju komponenata i mjeriti odgovarajuće površine pikova. Ako se uzorak prati preko fizičko-hemijskog svojstva za koje sve komponente od interesa pokazuju ekvivalentne odgovore (na primjer ako imaju istu specifičnu apsorbanču), izračunajte relativnu količinu svake komponente dijeleći odgovarajuću površinu pika sa zbirom površina pikova svih komponenti od interesa. Ako odgovori na svojstvo koje se koristi za otkrivanje komponenata od interesa nisu jednaki, izračunajte sadržaj pomoću kalibracionih krivih dobivenih kalibracionim standardima propisanim u monografiji.

ODREĐIVANJE MOLEKULARNIH MASA

Ekskluziona hromatografija može se koristiti za određivanje molekularnih masa upoređivanjem sa odgovarajućim kalibracionim standardima navedenim u monografiji. Volumeni zadržavanja kalibracionih standarda mogu se nanositi na grafikon u odnosu na logaritam njihovih molekularnih masa. Grafikon se obično približava ravnoj liniji unutar ekskluzionog i ukupnog permeacionog limita za korišteni separacioni medij. Na osnovu kalibracione krive, mogu se procijeniti molekularne mase. Kalibracija molekularne mase vrijedi samo za određeni makromolekularni rastvor/rastvarač sistem koji se koristi pod navedenim eksperimentalnim uvjetima.

ODREĐIVANJE DISTRIBUCIJE POLIMERA PREMA MOLEKULARNOJ VELIČINI

Ekskluziona hromatografija može se koristiti za određivanje distribucije polimera prema molekularnoj veličini. Međutim, komparacija uzoraka može vrijediti samo za rezultate dobivene pod istim eksperimentalnim uvjetima. Referentni standardi koji se koriste za kalibraciju i metode za određivanje distribucije polimera prema molekularnoj veličini specificirani su u monografiji.

2.2.32. GUBITAK SUŠENJEM

04/2018:20232

Gubitak sušenjem je gubitak mase izražen kao maseni postotak m/m .

Metoda. Propisana količina ispitivane supstance prenese se u izvaganu bocu, prethodno osušenu pod uslovima koji su propisani za ispitivanu supstancu. Ako je temperatura sušenja naznačena pojedinačnom vrijednošću, a ne rasponom, sušenje se provodi na propisanoj temperaturi uz dozvoljeno odstupanje $\pm 2^\circ\text{C}$. Supstanca se suši do konstantne mase ili propisano vrijeme jednim od sljedećih postupaka:

- a) „u eksikatoru“: sušenje se provodi iznad difosfor-pentoksida R pri atmosferskom pritisku i na sobnoj temperaturi;
- b) „u vakuumu“: sušenje se provodi iznad difosfor-pentoksida R, pri pritisku od 1,5 kPa do 2,5 kPa, na sobnoj temperaturi;
- c) „u vakuumu u određenom temperaturnom rasponu“: sušenje se provodi iznad difosfor-pentoksida R, pri pritisku od 1,5 kPa do 2,5 kPa, u temperaturnom rasponu propisanom u monografiji;
- d) „u sušioniku u određenom temperaturnom rasponu“: sušenje se provodi u sušioniku u temperaturnom rasponu propisanom u monografiji; kvalifikacija instrumenta provodi se u skladu sa uspostavljenim postupcima sistema kvaliteta, naprimjer, pomoću odgovarajućeg potvrđenog referentnog materijala (može se koristiti referentni standard natrijum-aminosalicilat dihidrat za provjeru karakteristika performansi);
- e) „pod visokim vakuumom“: sušenje se provodi iznad difosfor-pentoksida R pri pritisku koji ne prelazi 0,1 kPa, na temperaturi propisanoj u monografiji.

Ako su propisani drugačiji uslovi, postupak koji treba slijediti potpuno je opisan u monografiji.

2.2.46. HROMATOGRAFSKE SEPARACIONE TEHNIKE

07/2016:20246 korigovano 9.2

Hromatografske separacione tehnike su metode razdvajanja u više etapa u kojima se supstance iz uzorka raspodjeljuju između dvije faze, od kojih je jedna stacionarna, a druga mobilna. Stacionarna faza može biti u čvrstom ili tečnom stanju nanesa na čvrsti nosač ili gel. Stacionarna faza može biti pakovana u koloni, nanesa u vidu tankog sloja ili filma itd. Mobilna faza može biti gasovita, tečna ili superkritični fluid. Razdvajanje može biti zasnovano na adsorpciji, distribuciji masa (particija/raspodjela), izmjeni jona i dr. ili može da se temelji na razlikama u fizičko-hemijskim osobinama molekula kao što su veličina, masa, zapremina itd.

Ovo poglavlje sadrži definicije i formule za izračunavanje uobičajenih parametara i generalno primjenjive zahtjeve za provjeru pogodnosti sistema. Principi raspodjele, uređaji i metode prikazani su u sljedećim opštim metodama:

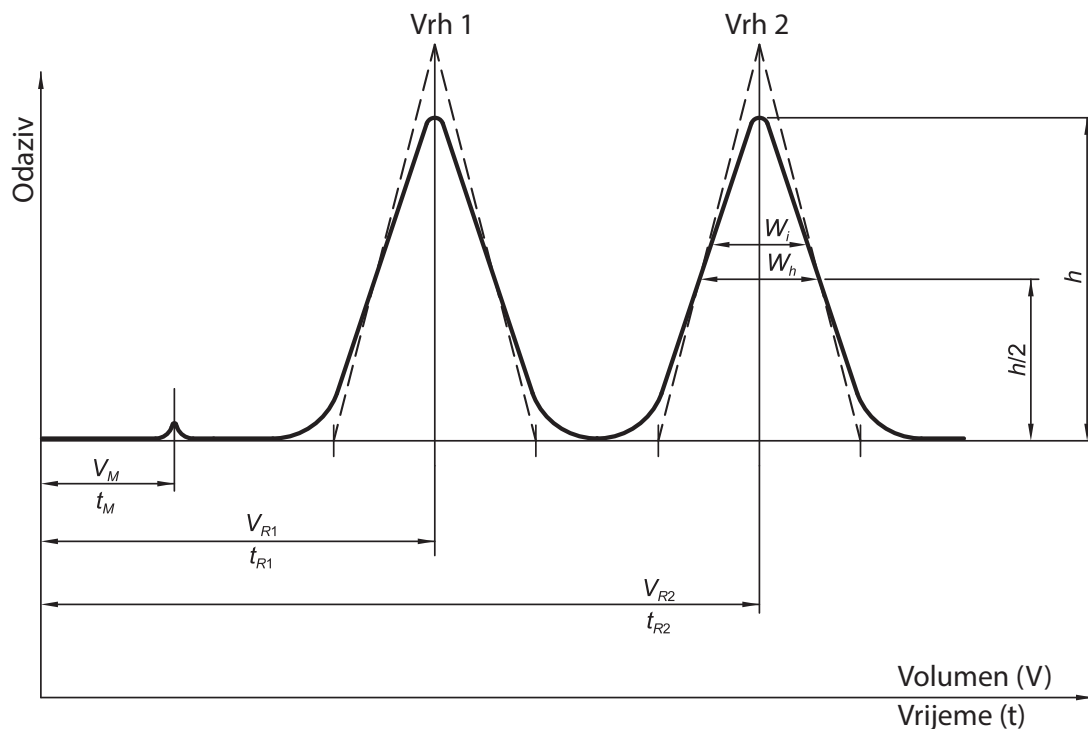
- papirna hromatografija (2.2.26);
- tankoslojna hromatografija (2.2.27);
- gasna hromatografija (2.2.28);
- tečna hromatografija (2.2.29);
- hromatografija molekularnog prosijavanja (2.2.30);
- superkritična fluidna hromatografija (2.2.45).

DEFINICIJE

Pogodnost sistema i kriteriji prihvatljivosti u monografijama postavljeni su upotrebom parametara kako je definirano u nastavku teksta. Na određenim uređajima pojedini parametri, kao što su odnos signala i šuma i rezolucija, mogu se izračunati pomoću programskog paketa proizvođača (softver za izračunavanje). Korisnik takvog programa/softvera odgovoran je za provjeru usklađenosti metoda izračunavanja sa zahtjevima Evropske farmakopeje, kao i za preduzimanje potrebnih korekcija u slučaju neusklađenosti.

Hromatogram

Hromatogram je grafički ili neki drugi reprezentativni prikaz odgovora detektora, koncentracije analita u elutu ili neka druga veličina koja se koristi kao mjera koncentracije analita u elutu, u odnosu na vrijeme ili zapreminu. Idealni hromatogrami predstavljeni su kao niz Gaussovih krivulja na baznoj liniji (Slika 2.2.46.-1).



Slika 2.2.46.-1.

Hromatografski pik

Hromatografski pik predstavlja dio hromatograma, snimljen kao odgovor detektora u vremenu, u kojem se pojedinačna komponenta (ili 2 ili više nerazdvojenih komponenti) eluira sa kolone.

Hromatografski pik može biti definisan površinom ispod pika, ili visinom pika (h) i širinom pika na polovini visine pika (w_h), ili visinom pika (h) i širinom pika između tačaka infleksije (w_i). Za Gaussove krivulje (Slika 2.2.46.-1) vrijedi odnos prikazan izrazom:

$$W_h = 1,18 w_i$$

Retenciono vrijeme (t_R)

Vrijeme koje je potrebno za eluiranje određene supstance (Slika 2.2.46.-1, jedinice na baznoj liniji izražene su u minutama).

Retenciona zapremina (V_R)

Zapremina mobilne faze koja je potrebna za eluiranje određenog jedinjenja. Može se izračunati iz retencionog vremena (t_R) i brzine protoka mobilne faze (F) u mililitrima po minuti upotrebom izraza:

$$V_R = t_R \times F$$

Hold-up vrijeme (t_M)

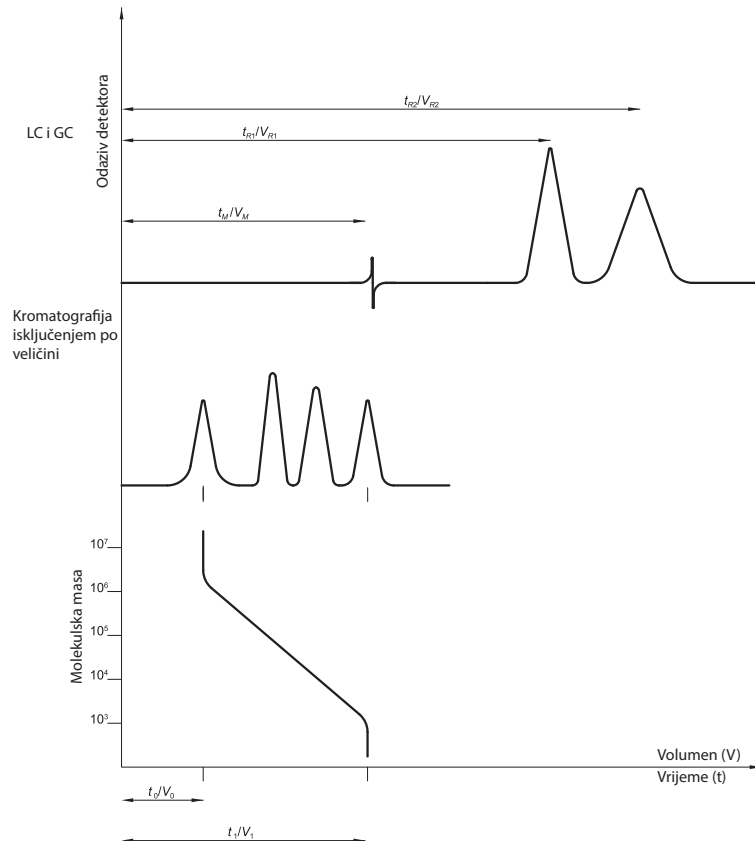
Vrijeme koje je potrebno za eluiranje supstanci koje se ne zadržava u koloni. (Slika 2.2.46.-1, skala bazne linije u minutama). U ekskluzivnoj hromatografiji koristi se simbol t_0 .

Hold-up zapremina (V_M)

Zapremina mobilne faze koja je potrebna za ispiranje supstanci koje se ne zadržava u koloni. Može se izračunati iz mrtvog vremena i brzine protoka mobilne faze (F) u mililitrima po minuti upotrebom izraza:

$$V_M = t_M \times F$$

U ekskluzivnoj hromatografiji koristi se simbol V_0 .



Slika 2.2.46.-2.

Retencioni faktor (k)

Retencioni faktor (takođe poznat i kao odnos distribucije mase (D_m) ili faktor kapaciteta (k')) definiše se izrazom:

$$k = \frac{\text{količina supstance u stacionarnoj fazi}}{\text{količina supstance u mobilnoj fazi}} = K_C \frac{V_S}{V_M}$$

K_C = distribuciona konstanta (takođe poznata pod nazivom ravnotežni koeficijent distribucije);

V_S = zapremina stacionarne faze;

V_M = zapremina mobilne faze.

Retencioni faktor određene supstance može se odrediti iz hromatograma korištenjem izraza:

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

k = retencioni faktor;

t_R = retenciono vrijeme ispitivane supstance;

t_M = retenciono vrijeme mobilne faze.

Ukupno vrijeme mobilne faze (t_t)

U ekskluzionoj hromatografiji ukupno vrijeme mobilne faze predstavlja vrijeme zadržavanja onih supstanci čije su molekule po veličini manje od najmanjih pora gela (Slika 2.2.46.-2).

Ukupna zapremina mobilne faze (V_t)

U ekskluzionoj hromatografiji zapremina zadržavanja supstanci čije su molekule po veličini manje od najmanjih pora gela. Može se izračunati iz ukupnog vremena mobilne faze i brzine protoka mobilne faze (F) u mililitrima po minuti upotrebom izraza:

$$V_t = t_t \times F$$

Retenciono vrijeme supstanci koje se ne zadržavaju (t_0)

U ekskluzionoj hromatografiji vrijeme zadržavanja supstanci čije su molekule po veličini veće od najvećih pora gela (Slika 2.2.46.-2).

Retenciona zapremina supstanci koje se ne zadržavaju (V_0)

U ekskluzionoj hromatografiji zapremina zadržavanja supstanci čije su molekule po veličini veće od najvećih pora gela. Može se izračunati iz vremena zadržavanja supstanci koje se ne zadržavaju u koloni i brzine protoka mobilne faze (F) u mililitrima po minuti upotrebom izraza:

$$V_0 = t_0 \times F$$

Konstanta distribucije (K_0)

U ekskluzionoj hromatografiji osobine eluiranja neke supstance s određene kolone mogu se izraziti pomoću konstante distribucije (poznate i kao koeficijent distribucije), koja se izračunava upotrebom izraza:

$$K_0 = \frac{t_R - t_0}{t_t - t_0}$$

K_0 = konstanta distribucije;

t_R = retenciono vrijeme ispitivane supstance;

t_0 = retenciono vrijeme supstance koje se ne zadržava u koloni.

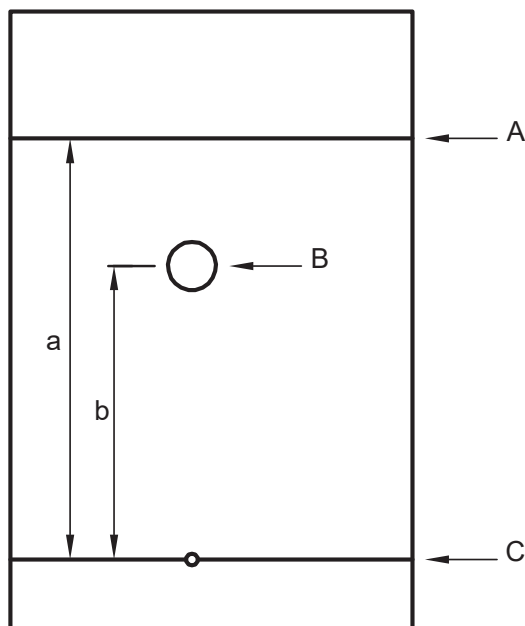
Faktor zadržavanja (R_F)

Faktor zadržavanja (poznat i kao retencioni faktor (R_f)), koji se koristi u hromatografiji na tankom sloju, predstavlja odnos udaljenosti od mjesta nanošenja uzorka do sredine/centra mrlje (b) i udaljenosti koju je prešao rastvarač (mobilna faza) od mjesta nanošenja do fronta (a), kao što je prikazano izrazom koji slijedi i na Slici 2.2.46.-3. Vrijednost a je udaljenost od startne linije do fronta i izražava se u centimetrima (cm).

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

b = udaljenost koju je prešla ispitivana supstanca;

a = udaljenost koju je prešla mobilna faza.



Slika 2.2.46.-3. A. front mobilne faze; B. mrlja; C. linija nanošenja (start)

Broj teoretskih tavana (N)

Efikasnost kolone može se izračunati iz podataka dobijenih u izotermalnim, izokratičnim ili uslovima jednake gustoće (engl. *isodense*), zavisno od tehnike. Izražava se kao broj teoretskih tavana, upotrebom sljedećeg izraza, gdje su vrijednosti t_R i w_h izražene u istim jedinicama:

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

t_R = vrijeme zadržavanja koje odgovara određenoj ispitivanoj supstanci;

w_h = širina pika računato na polovini njegove visine.

Broj teoretskih tavana varira, što zavisi od supstance kao i od same kolone, temperature kolone, sastava mobilne faze i retencionog vremena.

Dwell zapremina (D)

Dwell zapremina (poznata i kao zapremina kašnjenja gradijenta) je zapremina između tačke gdje eluenti dolaze u kontakt i ulaze u kolonu. Može se odrediti postupkom navedenim u nastavku teksta.

Kolona: hromatografska kolona se zamijeni odgovarajućom kapilarnom cjevčicom (npr. dimenzija 1 m × 0,12 mm).

Mobilna faza:

- mobilna faza A: voda R;
- mobilna faza B: 0,1% (V/V) rastvor acetona R.

Tabela 2.

Vrijeme (min)	Mobilna faza A (% V/V)	Mobilna faza B (% V/V)
0–20	100 → 0	0 → 100
20–30	0	100

Brzina protoka: postavljena tako da održi dovoljan pritisak (npr. 2 mL/min).

Detekcija: spektrofotometar na 265 nm.

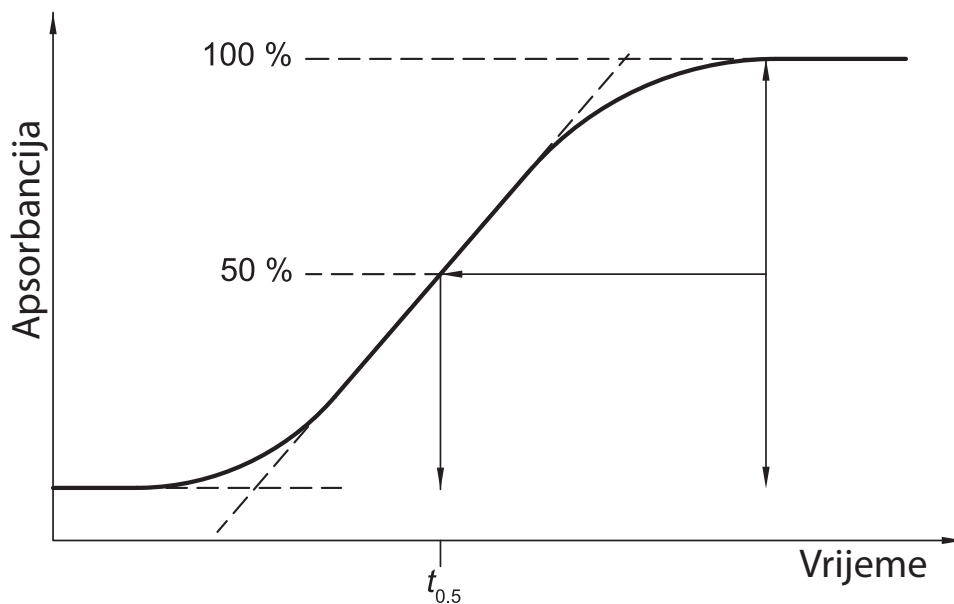
Odredi se vrijeme ($t_{0,5}$) u minutama u trenutku kad se apsorbancija poveća za 50% (Slika 2.2.46.-4). Zapremina odgode može se izračunati izrazom:

$$D = t_D \times F$$

$t_D = t_{0,5} - 0,5t_G$ (u minutama);

t_G = unaprijed definisano vrijeme gradijenta (= 20 minuta);

F = brzina protoka mobilne faze (u mililitrima po minuti).



Slika 2.2.46.-4.

Asimetrija pika (A_s)

Asimetrija pika (Slika 2.2.46.-5) izračunava se upotrebom izraza:

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

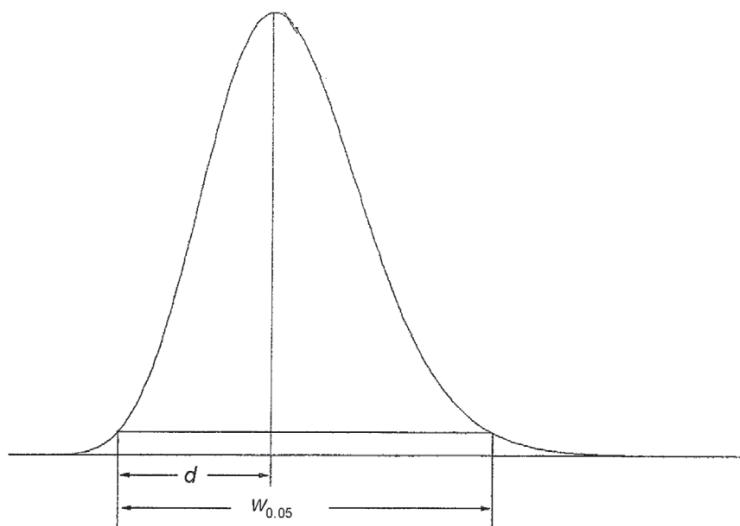
$w_{0,05}$ = širina pika na dvadesetini njegove visine (5%);

d = udaljenost između normale spuštene iz najviše tačke pika na baznu liniju i normale spuštene iz vodećeg kraja pika na dvadesetini njegove visine na baznu liniju.

Vrijednost $A_s = 1,0$ označava idealnu simetriju.

Kad je $A_s > 1,0$, pik pokazuje *tailing* (završno razvlačenje pika).

Kad je $A_s < 1,0$, pik ima *fronting* (početno razvlačenje pika).



Slika 2.2.46.-5.

Faktor rezolucije (R_s)

Faktor rezolucije između pikova dvije supstance (Slika 2.2.46.-1) može se izračunati upotrebom sljedećeg izraza:

$$R_s = \frac{1,18(t_{R2} - t_{R1})}{W_{h1} + W_{h2}}$$

$$t_{R2} > t_{R1}$$

t_{R1} , t_{R2} = vremena zadržavanja dva susjedna pika;

w_{h1} , w_{h2} = širine istih pikova na polovini njihove visine (h).

Upotrebom denzitometrije u kvantitativnoj hromatografiji na tankom sloju umjesto vremena zadržavanja koriste se migracijske udaljenosti, pa se rezolucija između pikova dvije supstance može izračunati korištenjem sljedećeg izraza:

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

t_{F1} , t_{F2} = faktori usporavanja pikova;

w_{h1} , w_{h2} = širine pikova na polovini njihove visine (h);

a = udaljenost koju je prešao rastvarač (mobilna faza).

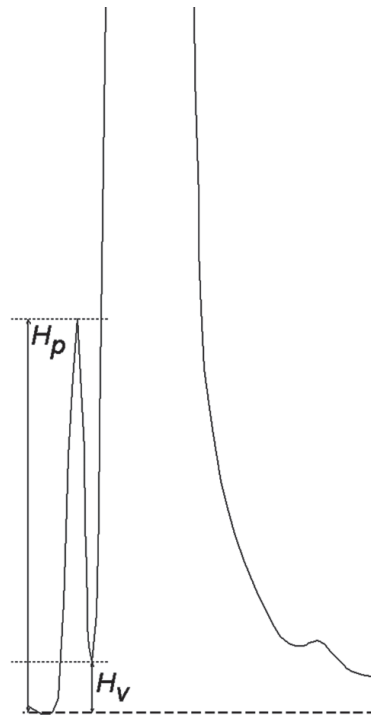
Peak-to-valley odnos (p/v)

Peak-to-valley ili odnos vrha i podnožja hromatografske krive (može se koristiti kao kriterij pogodnosti sistema u ispitivanju srodnih supstanci u slučaju kad nije postignuto potpuno razdvajanje na baznoj liniji između dva pika (Slika 2.2.46.-6).

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

H_p = visina manjeg pika iznad ekstrapolirane bazne linije;

H_v = visina iznad ekstrapolirane bazne linije na najnižoj tački razdvajanja između manjeg i većeg pika.



Slika 2.2.46.-6.

Relativno zadržavanje (r)

Relativno zadržavanje računa se upotrebom sljedećeg izraza:

$$r = \frac{t_{Ri} - t_M}{t_{Rst} - t_M}$$

t_{Ri} = vrijeme zadržavanja određenog pika;

t_{Rst} = vrijeme zadržavanja referentnog pika (obično pik koji odgovara ispitivanoj supstanci);

t_M = „hold-up“ vrijeme.

Neprilagođeno relativno zadržavanje (r_G) izračunava se upotrebom sljedećeg izraza:

$$r_G = \frac{t_{Ri}}{t_{Rst}}$$

Ako nije drugačije navedeno, vrijednosti relativnog zadržavanja navedene u monografijama odgovaraju neprilagođenom relativnom zadržavanju.

U hromatografiji na tankom sloju koriste se faktori zadržavanja (R_{Fst} i R_{Fi}) umjesto retencionih vremena t_{Rst} i t_{Ri} .

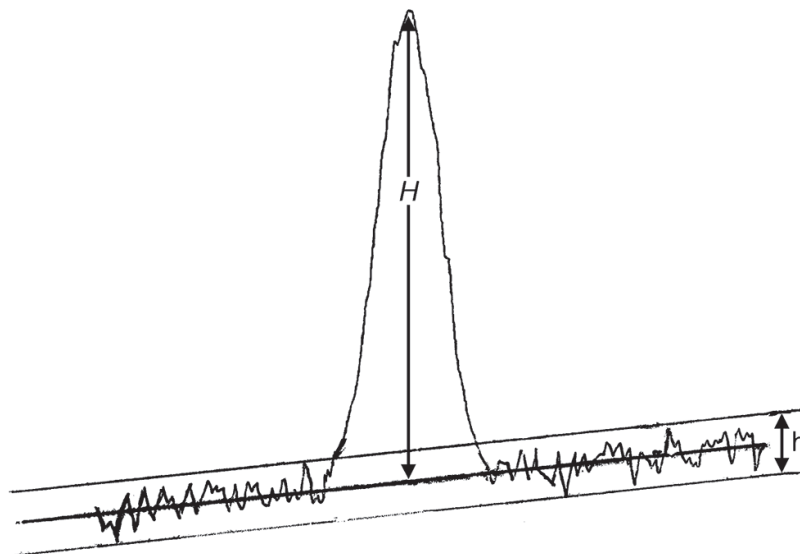
Odnos signala i šuma (S/N)

Kratkotrajni šum utiče na preciznost provođenja kvantitativne analize. Odnos signala i šuma računa se upotrebom sljedećeg izraza:

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

H = visina pika posmatrane supstance (Slika 2.2.46.-7) na hromatogramu dobijenom propisanim referentnim rastvorom, mjereno od vrha pika do ekstrapolirane bazne linije, čiji je signal sniman dužinom koja je jednaka najmanje 5 puta širini pika na polovini njegove visine;

h = veličina šuma na hromatogramu nakon iniciranja ili apliciranja slijepa probe, posmatrana dužinom koja odgovara najmanje 5 puta širini na polovini visine pika hromatograma propisanog referentnog rastvora i po mogućnosti mjerena u blizini pika.



Slika 2.2.46.-7.

Ponovljivost sistema

Ponovljivost odziva izražava se kao procijenjeni postotak relativnog standardnog odstupanja (s_r (%)) serije uzastopnih mjerenja za najmanje tri iniciranja ili aplikovanja poredbenog rastvora i izračunava se upotrebom sljedeće jednačine:

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

y_i = pojedinačne vrijednosti izražene kao površina pika, visina pika ili odnos površina pikova dobijenih metodom internog standarda;

\bar{y} = srednja vrijednost pojedinačnih vrijednosti;

n = broj pojedinačnih vrijednosti.

POGODNOST SISTEMA

Različiti dijelovi korištene opreme moraju biti kvalifikovani i u stanju da postignu zadovoljavajući kvalitet analize potreban za provođenje ispitivanja ili određivanje sadržaja.

Ispitivanje pogodnosti sistema predstavlja sastavni dio metode i koristi se kako bi se osigurala odgovarajuća performansa hromatografskog sistema. Prividna efikasnost, faktor zadržavanja (odnos distribucije mase), rezolucija i faktor simetrije su parametri koji se uglavnom koriste pri procjeni efikasnosti kolone. Faktori koji mogu uticati na hromatografsko ponašanje uključuju:

- sastav, jonsku jačinu, temperaturu i pH mobilne faze;
- brzinu protoka, dimenzije kolone, temperaturu i pritisak u koloni;
- osobine stacionarne faze uključujući tip hromatografske podloge (čestične ili monolitne), veličinu čestica ili makropora, poroznost, specifičnu površinu;
- reverznofazne ili druge površinske modifikacije stacionarnih faza, opseg hemijske modifikacije (izražene kao završno prekrivanje, opterećenje ugljenikom itd.).

Ako nije drugačije propisano, potrebno je u potpunosti ispuniti sljedeće zahtjeve i bilo koje dodatne zahtjeve koji se nalaze u pojedinačnim monografijama:

- kod određivanja sadržaja srodnih supstanci asimetrija pika na hromatogramu poredbenog rastvora mora biti između 0,8 i 1,5, ako nije drugačije propisano;
- kod određivanja sadržaja aktivne supstance, kad vrijednost sadržaja iznosi 100% čiste supstance, maksimalno dopušteno relativno standardno odstupanje ($s_r (\%)_{max}$) za definisane granice računa se iz serije injiciranja poredbenog rastvora upotrebom sljedeće jednačine:

$$s_r (\%)_{max} = \frac{K B \sqrt{n}}{t_{90\%,n-1}}$$

K = konstanta (0,349) dobijena iz izraza $K = \frac{0,6}{\sqrt{2}} \times \frac{t_{90\%,5}}{\sqrt{6}}$ gdje $\frac{0,6}{\sqrt{2}}$ predstavlja zahtijevani postotak relativnog standardnog odstupanja nakon 6 ubrizgavanja za $B = 1,0$;

B = gornja granica definisana u pojedinačnoj monografiji umanjena za 100%;

n = broj ponovljenih injektovanja poredbenog rastvora ($3 \leq n \leq 6$);

$t_{90\%,n-1}$ = t vrijednost Studentovog t -testa pri nivou vjerojatnoće od 90% (obostrana) uz stepen slobode $n - 1$.

Ako nije drugačije propisano, najveća dozvoljena vrijednost relativnog standardnog odstupanja ne prelazi odgovarajuću vrijednost navedenu u Tabeli 2.2.46.-1. Ovaj zahtjev se ne odnosi na ispitivanja srodnih supstanci.

Tabela 2.2.46.-1. Zahtjevi za ponovljivost

	Broj pojedinačnih injektovanja			
	3	4	5	6
B (%)	Najveća dozvoljena vrijednost relativnog standardnog odstupanja			
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

U ispitivanju srodnih supstanci granica kvantifikacije (koja odgovara vrijednosti odnosa signala i šuma jednakoj 10) jednaka je ili manja od granice zanemarivanja.

Kriteriji prihvatljivosti ispitivanja pogodnosti sistema moraju biti zadovoljeni tokom čitavog hromatografskog postupka. Zavisno od različitih faktora, kao što su učestalost primjene postupka, te iskustvo rada s hromatografskim sistemom, analitičar treba izabrati odgovarajući plan provjere pogodnosti sistema.

PODEŠAVANJE HROMATOGRFSKIH USLOVA

U daljem tekstu je naveden opseg dozvoljenih promjena pojedinih parametara hromatografskog ispitivanja u svrhu zadovoljavanja kriterija pogodnosti sistema, bez značajnog odstupanja u toku izvođenja metode. Podešavanje uslova kod gradijentnog eluiranja kritičnije je u odnosu na izokratsko eluiranje, a razlog tome je što može dovesti do pomjeranja pikova u neki drugi korak gradijenta, te prouzrokovati neispravna retencionna vremena ispitivanih supstanci. Takođe, može doći do maskiranja pikova ili pomaka, zbog čega se eluiranje supstanci odvija izvan propisanog vremena.

Promjene koje ovdje nisu navedene zahtijevaju revalidaciju metode. Opisani hromatografski uslovi validirani su tokom izrade monografije.

Postupci ispitivanja pogodnosti sistema uvršteni su kako bi se potvrdilo da je postignuto zadovoljavajuće razdvajanje ispitivanih supstanci potrebno za kvalitetno provođenje kvantitativne i kvalitativne analize.

Ipak, s obzirom na to da su stacionarne faze opisane uopšteno, te da postoji velika raznovrsnost komercijalno dostupnih kolona sa razlikama u hromatografskom ponašanju, možda će biti potrebna određena podešavanja hromatografskih uslova s ciljem da se zadovolje propisani zahtjevi pogodnosti sistema.

Posebno kod metoda reverznofazne tečne hromatografije, podešavanje različitih parametara neće uvijek za rezultat imati zadovoljavajuću hromatografiju. U tom slučaju možda će biti potrebno zamijeniti kolonu nekom drugom kolonom istog tipa (naprimjer: oktadecilsilil silika gel) koja pokazuje zadovoljavajuće hromatografsko ponašanje. *Knowledge database* na internetskoj stranici EDQM-a obično sadrži informacije o koloni(ama) korištenoj(im) tokom izrade monografije. Kako bi se osigurala pogodnost sistema, kritični faktori za provjeru pogodnosti sistema jasno su definisani u monografiji.

Tankoslojna hromatografija i papirna hromatografija

Sastav mobilne faze. Količina konstituenata mobilne faze može se mijenjati, tj. prilagođavati za $\pm 30\%$ u relativnom iznosu ili za $\pm 2\%$ u apsolutnom iznosu, zavisno koji konstituent mobilne faze čini veći udio. Ove promjene se odnose na dio mobilne faze koja čini manji udio te mobilne faze. Za komponentu u mobilnoj fazi s udjelom od 10% promjene, tj. prilagođavanje u iznosu od 30% relativne vrijednosti udjela, dopušta raspon udjela 7%–13%, dok u isto vrijeme prilagođavanje u apsolutnom iznosu od 2% dopušta raspon udjela 8%–12%. U ovom slučaju veće su promjene dozvoljene u relativnom iznosu. Za komponentu u mobilnoj fazi sa udjelom od 5% prilagođavanje u iznosu od 30% relativne vrijednosti udjela dopušta raspon udjela 3,5%–6,5%, dok u isto vrijeme prilagođavanje u apsolutnom iznosu od 2% dopušta raspon udjela 3%–7%. U ovom slučaju veće su promjene dozvoljene u apsolutnom iznosu. Niti u jednoj drugoj komponenti udio u mobilnoj fazi ne smije se promijeniti za više od 10% u apsolutnom iznosu.

pH vrijednost vodenog rastvora mobilne faze: dozvoljene promjene su $\pm 0,2$ pH jedinice, ako nije drugačije propisano; ili $\pm 1,0$ pH jedinica pri ispitivanju supstanci koje se ne mogu jonizovati.

Koncentracija soli pufera u mobilnoj fazi: dozvoljeno odstupanje je $\pm 10\%$.

Zapremina nanošenja: nanosi se 10%–20% propisane zapremine, ako se koriste ploče sa sitnim česticama (2–10 μm veličina čestica).

Tečna hromatografija: izokratsko eluiranje

Sastav mobilne faze. Količina konstituenata mobilne faze može se mijenjati za $\pm 30\%$ u relativnom iznosu ili za $\pm 2\%$ u apsolutnom iznosu, zavisno šta je veće (vidjeti gornji primjer). Ove promjene se odnose na dio mobilne faze koja čini manji udio te mobilne faze. Niti u jednoj drugoj komponenti u mobilnoj fazi udio se ne smije promijeniti za više od 10% u apsolutnom iznosu.

pH vrijednost vodenog rastvora mobilne faze: dozvoljene promjene su $\pm 0,2$ pH jedinice, ako nije drugačije propisano; ili $\pm 1,0$ pH jedinica pri ispitivanju supstanci koje se ne mogu jonizovati.

Koncentracija soli pufera u mobilnoj fazi: dozvoljeno odstupanje je $\pm 10\%$.

Brzina protoka mobilne faze: dozvoljene promjene $\pm 50\%$; veći stepen prilagođavanja je prihvatljiv samo kada se mijenjaju dimenzije kolone (vidjeti donji izraz).

Parametri kolone

Stacionarna faza:

- nije dopuštena promjena identiteta supstituenta stacionarne faze (naprimjer C_{18} se ne smije zamijeniti sa C_8), tj. ne smije se mijenjati sastav stacionarne faze;
- *veličina čestica:* nije dopušteno povećavanje veličine čestica; dopušteno je smanjenje najviše za 50%.

Dimenzije kolone:

- *dužina kolone:* $\pm 70\%$;
- *unutrašnji promjer:* $\pm 25\%$.

Ako je potrebno, kad se mijenjaju dimenzije kolone, može se prilagoditi i brzina protoka upotrebom sljedećeg izraza:

$$F_2 = F_1 \frac{l_2 d_2^2}{l_1 d_1^2}$$

F_1 = brzina protoka mobilne faze navedena u monografiji, u mililitrima po minuti;

F_2 = prilagođena brzina protoka mobilne faze, u mililitrima po minuti;

l_1 = dužina kolone navedena u monografiji, u milimetrima;

l_2 = dužina kolone koja se koristi, u milimetrima;

d_1 = unutrašnji promjer kolone naveden u monografiji, u milimetrima;

d_2 = unutrašnji promjer kolone koja se koristi, u milimetrima.

Temperatura: $\pm 10^\circ\text{C}$ od zadate radne temperature, ako nije drugačije propisano.

Talasna dužina detekcije: nije dopušteno prilagođavanje.

Zapremina injektovanja: može se smanjiti, pod uslovom da su detekcija i ponovljivost za određivane pikove zadovoljavajući; nije dopušteno povećavanje.

Tečna hromatografija: gradijentno eluiranje

Podešavanje hromatografskih uslova u sistemu sa gradijentnim eluiranjem zahtijeva veći oprez u odnosu na hromatografski sistem sa izokratskim eluiranjem.

Sastav mobilne faze/gradijentno eluiranje: manje promjene sastava mobilne faze i gradijenta su prihvatljive pod uslovom da:

- su ispunjeni zahtjevi pogodnosti sistema;
- glavni pik(ovi) eluira(ju) unutar $\pm 15\%$ od naznačenog vremena zadržavanja;
- konačni sastav mobilne faze nema slabiju snagu eluiranja od propisanog sastava.

U slučajevima kad nije moguće postići zadovoljavanje zahtjeva za postizanje pogodnosti sistema preporučuje se ili razmotriti promjenu zapremine zadržavanja ili zamijeniti kolonu.

Zapremina zadržavanja. Konfiguracija korištene opreme može značajno uticati na promjenu u razdvajanju supstanci (faktor rezolucije R_s), zatim na vrijeme zadržavanja (t_R) i relativna zadržavanja (t_{Ri}) propisana u monografiji. Ukoliko se ovakva promjena dogodi, jedan od razloga može biti velika zapremina zadržavanja. U monografijama je obično, prije početka navedenog gradijentnog programa, uvršten izokratski korak kako bi se moglo napraviti prilagođavanje vremenskih tačaka gradijenta. U ovom slučaju mora se voditi računa o razlici između zapremine zadržavanja sistema korištenog za razvoj metode i sistema na kojem se vrši ispitivanje.

Odgovornost korisnika je da prilagodi trajanje izokratskog koraka na korištenoj analitičkoj opremi. Ako je zapremina zadržavanja sistema korištenog za razvoj metode navedena u monografiji, vremenske tačke (t min) navedene u tabeli gradijenta mogu se zamijeniti prilagođenim vremenskim tačkama (t_c min) izračunatim upotrebom sljedećeg izraza:

$$t_c = t - \frac{D - D_0}{F}$$

D = zapremina zadržavanja sistema na kojem se vrši ispitivanje, u mililitrima;

D_0 = zapremina zadržavanja sistema korištenog u razvoju metode, u mililitrima;

F = brzina protoka, u mililitrima po minuti.

Izokratski korak koji je uveden iz gore opisanog razloga može se izostaviti ako su dostupni podaci o validaciji metode bez navedenog koraka.

pH vrijednost vodenog rastvora mobilne faze: nije dopušteno prilagođavanje.

Koncentracija soli pufera u mobilnoj fazi: nije dopušteno prilagođavanje.

Brzina protoka mobilne faze: prilagođavanje je prihvatljivo kad se mijenjaju dimenzije kolone (vidjeti donji izraz).

Parametri kolone

Stacionarna faza:

- promjena identiteta supstituenta stacionarne faze nije dopuštena (naprimjer C_{18} se ne smije zamijeniti sa C_8);
- *veličina čestica*: nije dopušteno prilagođavanje.

Dimenzije kolone.

- *dužina*: $\pm 70\%$;
- *unutrašnji promjer*: $\pm 25\%$.

Kad se mijenjaju dimenzije kolone, može se prilagoditi, ako je potrebno, i brzina protoka mobilne faze upotrebom sljedećeg izraza:

$$F_2 = F_1 \frac{l_2 d_2^2}{l_1 d_1^2}$$

F_1 = brzina protoka mobilne faze navedena u monografiji, u mililitrima po minuti;

F_2 = prilagođena brzina protoka mobilne faze, u mililitrima po minuti;

l_1 = dužina kolone navedena u monografiji, u milimetrima;

l_2 = dužina kolone koja se koristi, u milimetrima;

d_1 = unutrašnji promjer kolone naveden u monografiji, u milimetrima;

d_2 = unutrašnji promjer kolone koja se koristi, u milimetrima.

Temperatura: $\pm 5^\circ\text{C}$ od zadate radne temperature, ako nije drugačije propisano.

Talasna dužina detekcije: nije dopušteno prilagođavanje.

Zapremina injektovanja: može se smanjiti, pod uslovom da su detekcija i ponovljivost za određivane pikove zadovoljavajući; nije dopušteno povećavanje.

Gasna hromatografija**Parametri kolone**

Stacionarna faza:

- *veličina čestica*: nije dopušteno povećanje veličine čestica stacionarne faze (pakovane kolone); dopušteno je smanjenje od najviše 50%;
- *debljina filma*: od -50% do $+100\%$ (kapilarne kolone).
- *Dimenzije kolone*:
- *dužina*: $\pm 70\%$;
- *unutrašnji promjer*: $\pm 50\%$.

Brzina protoka mobilne faze: $\pm 50\%$.

Temperatura: $\pm 10\%$.

Zapremina injektovanja i zapremina razdvajanja uzorka: može se prilagoditi, pod uslovom da su detekcija i ponovljivost zadovoljavajući.

Superkrična fluidna hromatografija

Sastav mobilne faze. Za pakovane kolone količina komponenata mobilne faze može se mijenjati za $\pm 30\%$ u relativnom iznosu ili za $\pm 2\%$ u apsolutnom iznosu, zavisno šta je veće. Ove promjene se odnose na dio mobilne faze koja čini manji udio te mobilne faze. Ove promjene nisu dopuštene za sistem sa kapilarnim kolonama.

Talasna dužina detekcije: nije dopušteno prilagođavanje.

Parametri kolone

Stacionarna faza:

- *veličina čestica*: nije dopušteno povećavanje veličine čestica (pakovane kolone), dopušteno je smanjenje za najviše 50%.

Dimenzije kolone:

- dužina $\pm 70\%$;
- unutrašnji promjer: $\pm 25\%$ (pakovane kolone); $\pm 50\%$ (kapilarne kolone).

Brzina protoka mobilne faze: $\pm 50\%$.

Temperatura: $\pm 5^\circ\text{C}$ od zadane radne temperature.

Zapremina injektovanja: može se smanjiti, pod uslovom da su detekcija i ponovljivost zadovoljavajući, nije dopušteno povećavanje.

ODREĐIVANJE SADRŽAJA

Pri određivanju sadržaja zanemaruju se pikovi koji su porijeklom od rastvarača, reagenasa, mobilne faze ili matriksa uzorka (ekscipijensi).

- *Osjetljivost detektora.* Osjetljivost detektora predstavlja izlazni signal po jedinici koncentracije ili jedinici mase analizirane supstance u mobilnoj fazi koja ulazi u detektor. Faktor relativnog odziva detektora, poznatiji kao *faktor odgovora*, izražava osjetljivost detektora na određenu supstancu u odnosu na standardnu supstancu. *Faktor korekcije* recipročan je *faktoru odgovora*.
- *Metoda eksternog standarda.* Koncentracija analizirane(ih) supstance(i) određuje se upoređivanjem odgovora pika(ova) ispitivane supstance i odgovora pika poredbene supstance.
- *Metoda internog standarda.* Jednake količine internog standarda unose se u rastvor u kojem se nalaze ispitivane supstance i u poredbeni rastvor koji sadrži standarde ispitivanih supstanci u istim koncentracijama. Interni standard koji se koristi mora biti takav da ne reaguje sa ispitivanim supstancama. Mora biti stabilan i da ne sadrži onečišćenja s istim vremenom zadržavanja (t_R) kao ispitivana supstanca. Koncentracija ispitivane supstance određuje se upoređivanjem odnosa površine pika ili visine pika ispitivane supstance i internog standarda u analiziranom uzorku, sa odnosom površine pika ili visine pika ispitivane supstance i internog standarda u poredbenom rastvoru.
- *Postupak normalizacije.* Sadržaj ispitivane supstance izražen u postotku izračunava se određivanjem površine odgovarajućeg pika kao postotak od ukupne površine svih pikova, isključujući pikove koji su porijeklom od rastvarača, reagenasa, mobilne faze ili matriksa uzorka, kao i one koji su na granici zanemarivanja ili ispod nje.
- *Postupak kalibracije.* Odredi se odnos između izmjerene ili procijenjene vrijednosti signala (y) i količine (koncentracije, mase itd.) ispitivane supstance (x) i izračuna funkcija kalibracije. Analitički rezultati izračunaju se iz izmjenjenog signala ili procijenjenog signala analita pomoću inverzne funkcije.

U ispitivanju srodnih supstanci metodom eksternog standarda i postupka normalizacije, ukoliko se za upoređivanje koristi ispitivani rastvor koji je razblažen, primjenjuje se faktor(i) korekcije naveden(i) u monografiji (naprimjer, kad je faktor odgovora izvan raspona 0,8–1,2).

Kad se za ispitivanje srodnih supstanci propisuje određivanje ukupnih nečistoća, važno je postaviti odgovarajući limit i zadovoljavajuće uslove integracije površine pika. U takvim ispitivanjima *granica zanemarivanja*, na primjer granica na kojoj (ili ispod koje) se pik zanemaruje, obično iznosi 0,05%. Integracija površine pika bilo kojeg onečišćenja koje se nije u potpunosti razdvojilo od glavnog pika provodi se ekstrapolacijom od podnožja do podnožja (*valley-to-valley (tangential skim)*) – Slika 2.2.46.-6.

2.5.1. KISELINSKI BROJ

01/2008:20501

korigovan 8.6

Kiselinski broj I_A izražava količinu kalijevog hidroksida u miligramima potrebnu za neutralizaciju slobodnih kiselina prisutnih u jednom gramu tvari.



Otopi se 10,00 g ispitivane tvari ili propisana količina (mg) u 50 mL smjese jednakih volumena *etanola* (96%) *R* i *laganog petroleja R3*, koji je prethodno neutraliziran sa *0,1 M kalijevim hidroksidom* ili sa *0,1 M natrijevim hidroksidom*, ako nije drugačije navedeno. Kao indikator koristi se *0,5 mL otopine fenolftaleina R1*. Ako je potrebno, pripremljena otopina se zagrije na oko 90°C kako bi se ispitivana tvar otopila. Kad se ispitivana tvar otopi, titrira se sa *0,1 M kalijevim hidroksidom* ili *0,1 M natrijevim hidroksidom* do zadržavanja ružičaste boje najmanje 15 s (*n* mL titranta). Ukoliko se ispitivana otopina zagrijava s ciljem da se potpomogne otapanje ispitivane tvari, onda se tokom titracije temperatura održava na oko 90°C.

$$I_A = \frac{5,611n}{m}$$

2.5.2. ESTERSKI BROJ

01/2008:20502

Esterski broj I_E izražava količinu kalijevog hidroksida u miligramima koji je potreban za osapunjenje estera prisutnih u 1 g tvari. Računa se iz saponifikacijskog broja I_S i kiselinskog broja I_A :

$$I_E = I_S - I_A$$

2.5.3. HIDROKSILNI BROJ

01/2008:20503

Hidroksilni broj I_{OH} izražava količinu kalijevog hidroksida u miligramima koji je potreban za neutralizaciju kiseline dobijene acetiliranjem 1 g tvari.

METODA A

Ako u monografiji nije propisana druga količina, u tikvicu za acetiliranje od 150 mL sa zračnim hladilom stavi se količina ispitivane supstance navedena u Tabeli 2.5.3.-1. (mg). Doda se *otopina anhidrida acetatne kiseline R1* u količini navedenoj u Tabeli 2.5.3.-1. i spoji zračno hladilo.

Tabela 2.5.3.-1.

Pretpostavljeni hidroksilni broj I_{OH}	Količina uzorka (g)	Volumen acetilirajućeg reagensa (mL)
10–100	2,0	5,0
100–150	1,5	5,0
150–200	1,0	5,0
200–250	0,75	5,0
250–300	0,60 ili 1,20	5,0 ili 10,0
300–350	1,0	10,0
350–700	0,75	15,0
700–950	0,5	15,0

Tikvica se grije na vodenom kupatilu 1 h održavajući nivo vode u vodenom kupatilu oko 2,5 cm iznad nivoa tekućine u tikvici. Tikvica se izvadi iz vodenog kupatila i ostavi da se ohladi. Doda se 5 mL vode R kroz gornji otvor hladila. Ako se pojavi замуćenje, dodaje se *piridin R* dok se otopina ne razbistri, bilježeći dodani volumen. Tikvica se protrese i premjesti na vodeno kupatilo još 10 minuta. Izvadi se iz vodenog kupatila i ostavi da se ohladi. Hladilo i zidovi tikvice isperu se sa 5 mL alkohola R, prethodno neutraliziranog uz otopinu fenolftaleina R1. Titrira se sa 0,5 M alkoholnom otopinom kalijevog hidroksida upotrebom 0,2 mL otopine fenolftaleina R1 kao indikatora (n_1 mL 0,5 M alkoholne otopine kalijevog hidroksida). Provede se slijepa proba u istim uslovima (n_2 mL 0,5 M alkoholne otopine kalijevog hidroksida).

$$I_{OH} = \frac{28,05 \times (n_2 - n_1)}{m} + I_A$$

METODA B

Stavi se propisana količina ispitivane supstance (mg) u potpuno suhu Erlenmeyer tikvicu od 5 mL s brušenim staklenim ili pogodnim plastičnim čepom i doda 2,0 mL reagensa anhidrida propionske kiseline R. Tikvica se začepi i lagano protrese dok se supstanca ne rastvori. Ostavi se 2 sata, osim ako nije drugačije propisano. Tikvica se odčepi i prenese zajedno sa sadržajem u Erlenmeyer tikvicu od 500 mL širokog grla, koja sadrži 25,0 mL 9 g/L otopine anilina R u cikloheksanu R i 30 mL ledene acetatne kiseline R. Sadržaj tikvice se promiješa kružnim pokretima, ostavi da odstoji 5 minuta, doda se 0,05 mL otopine kristalvioleta R i titrira sa 0,1 M perhlornom kiselinom do pojave smaragdnozelene boje (n_1 mL 0,1 M perhlorne kiseline). Provede se slijepa proba u istim uslovima (n_2 mL 0,1 M perhlorne kiseline).

$$I_{OH} = \frac{5,610 \times (n_1 - n_2)}{m} + I_A$$

Da bi se uzela u obzir prisutna voda, treba je odrediti (y posto) postupkom za semimikro određivanje vode (2.5.12).

Tada se hidroksilni broj određuje prema jednačini:

$$I_{OH} = (\text{određeni hidroksilni broj}) - 31,1y$$

2.5.4. JODNI BROJ

01/2008:20504

Jodni broj I_j izražava količinu halogena u gramima, izračunato kao jod, koja adira 100 g supstance u propisanim uslovima.

Ako u monografiji nije drugačije propisano, radi se po Metodi A. Svaka se promjena iz Metode A u Metodi B mora validirati.

METODA A

Ako nije drugačije propisano, za određivanje se koriste sljedeće količine (Tabela 2.5.4.-1).

Tabela 2.5.4.-1.

Pretpostavljeni jodni broj I_1	Količina uzorka (g)
manje od 20	1,0
20–60	0,5–0,25
60–100	0,25–0,15
više od 100	0,15–0,10

Stavi se propisana količina ispitivane supstance (mg) u odmjernu tikvicu od 250 mL s brušenim staklenim čepom, prethodno osušenu ili ispranu *ledenom acetatnom kiselinom R*, i otopi u 15 mL *hlороформа R*, osim ako nije drugačije propisano. Polako se doda 25,0 mL *jodobromidne otopine R*. Tikvica se začepi i ostavi stajati na tamnom mjestu 30 minuta, uz često protresanje, osim ako nije drugačije propisano. Dodaje se 10 mL 100 g/L otopine *kalijevog jodida R* i 100 mL *vode R*. Titrira se sa 0,1 M *natrijevim tiosulfatom*, uz snažno protresanje dok žuto obojenje gotovo ne nestane. Dodaje se 5 mL *otopine škroba R* i nastavi titrirati dokapavanjem 0,1 M *natrijevog tiosulfata* do nestanka obojenja (n_1 mL 0,1 M *natrijevog tiosulfata*). Provede se slijepa proba u istim uslovima (n_2 mL 0,1 M *natrijevog tiosulfata*).

$$I_1 = \frac{1,269 \times (n_2 - n_1)}{m}$$

METODA B

Ako nije drugačije propisano, za određivanje se koriste sljedeće količine (Tabela 2.5.4.-2).

Tabela 2.5.4.-2.

Pretpostavljena vrijednost I_1	Masa (g) (razmjerno suvišku 150% ICl)	Masa (g) (razmjerno suvišku 100% ICl)	Jodohloridna otopina (mL)
<3	10	10	25
3	8,4613	10,5760	25
5	5,0770	6,3460	25
10	2,5384	3,1730	20
20	0,8461	1,5865	20
40	0,6346	0,7935	20
60	0,4321	0,5288	20
80	0,3173	0,3966	20
100	0,2538	0,3173	20
120	0,2115	0,2644	20
140	0,1813	0,2266	20
160	0,1587	0,1983	20
180	0,1410	0,1762	20
200	0,1269	0,1586	20

Masa uzorka je takva da će *jodohloridna otopina R* (ICl) biti u suvišku od 50% do 60% od dodane količine, odnosno 100% do 150% apsorbirane količine.

Stavi se propisana količina ispitivane supstance (mg) u tikvicu od 250 mL s brušenim staklenim čepom, prethodno osušenu ili ispranu *ledenom acetatnom kiselinom R*, i otopi u 15 mL *hlороформа R*, osim ako nije drugačije propisano. Ako je potrebno, supstanca se rastali prije otapanja (talište je iznad 50°C). Polako se dodaje volumen *jodohloridne otopine R* naveden u Tabeli 2.5.4.-2. Tikvica se začepi i ostavi na tamnom mjestu 30 minuta, osim ako

nije drugačije propisano, uz često protresanje. Doda se 10 mL 100 g/L otopine kalijevog jodida R i 100 mL vode R. Titrira se sa 0,1 M natrijevim tiosulfatom, uz snažno protresanje dok žuto obojenje gotovo ne nestane. Doda se 5 mL otopine škroba R i nastavi titrirati 0,1 M natrijevim tiosulfatom dokapavanjem do nestanka obojenja (n_1 mL 0,1 M natrijevog tiosulfata). Provede se slijepa proba u istim uslovima (n_2 mL 0,1 M natrijevog tiosulfata).

$$I_I = \frac{1,269 \times (n_2 - n_1)}{m}$$

2.5.5. PEROKSIDNI BROJ

01/2016:20505

Peroksidni broj I_p izražava količinu peroksida u miliekvivalentima aktivnog kisika sadržanog u 1000 g supstance, određenog niže opisanim metodama.

Ako u monografiji nije drugačije propisano, radi se po Metodi A. Svaka se promjena iz Metode A u Metodi B mora validirati.

METODA A

Stavi se 5,00 g ispitivane supstance (mg) u Erlenmeyer tikvicu od 250 mL s brušenim staklenim čepom. Doda se 30 mL smjese od dva volumena hloroforma R i tri volumena ledene acetatne kiseline R. Promućka se do potpunog otapanja tvari, te doda 0,5 mL zasićene otopine kalijevog jodida R. Potom se mućka tačno jednu minutu i zatim doda 30 mL vode R. Titrira se sa 0,01 M natrijevim tiosulfatom, dodajući ga polagano uz neprestano snažno mućkanje dok žuto obojenje gotovo ne nestane. Doda se 5 mL otopine škroba R i nastavi titrirati uz snažno mućkanje do nestanka obojenja (n_1 mL 0,01 M natrijevog tiosulfata). Provede se slijepa proba u istim uslovima (n_2 mL 0,01 M natrijevog tiosulfata). Volumen 0,01 M natrijevog tiosulfata utrošen u slijepoj probi ne smije biti veći od 0,1 mL.

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

METODA B

Metoda se provodi izbjegavajući izlaganje aktinijskom svjetlu.

50 mL smjese dva volumena trimetilpentana R i tri volumena ledene acetatne kiseline R stavi se u Erlenmeyer tikvicu i začepi. Sadržaj se izmiješa kružnim pokretima, dok se ispitivana supstanca ne otopi (mg; vidi Tabelu 2.5.5.-1). Upotrebom odgovarajuće volumetrijske pipete, doda se 0,5 mL zasićene otopine kalijevog jodida R i tikvica se začepi. Otopina se ostavi stajati 60 ± 1 s uz neprestano temeljito mućkanje i zatim se doda 30 mL vode R.

Tabela 2.5.5.-1.

Očekivani peroksidni broj I_p	Masa ispitivane tvari (g)
0 do 12	2,00 do 5,00
12 do 20	1,20 do 2,00
20 do 30	0,80 do 1,20
30 do 50	0,500 do 0,800
50 do 90	0,300 do 0,500

Otopina se titrira sa $0,01\text{ M}$ natrijevim tiosulfatom (V_1 mL) postupno ga dodajući uz neprestano snažno mućkanje dok žuto obojenje gotovo ne nestane. Doda se oko $0,5\text{ mL}$ otopine škroba R1 i nastavi titrirati uz neprestano mućkanje pogotovo prije završne tačke titracije, kako bi se oslobodio sav jod iz sloja otapala. Dalje se dokapava otopina natrijevog tiosulfata do nestanka plavog obojenja.

Ovisno o utrošenom volumenu $0,01\text{ M}$ natrijevog tiosulfata može biti potrebno titrirati sa $0,1\text{ M}$ natrijevim tiosulfatom.

BILJEŠKA: neutralizacija škroba kao indikatora, zbog sklonosti trimetilpentana da pluta na površini vodenog medija, može kasniti oko 15 s do 30 s kod peroksidnih brojeva od 70 i većih, pa je potrebno vrijeme da se otapalo i vodeni titrant pomiješaju u odgovarajućoj mjeri, oslobađajući i posljednje tragove joda. Preporučuje se upotreba $0,1\text{ M}$ natrijevog tiosulfata kod peroksidnih brojeva većih od 150. U smjesu se može dodati i mala količina ($0,5\%$ do $1,0\%$ m/m) emulgatora visoke vrijednosti hidrofilno-lipofilnog balansa (HLB vrijednosti) (npr. polisorbitat 60) kako bi se usporilo odjeljivanje faza i smanjilo vrijeme oslobađanja joda.

Provede se slijepa proba (V_0 mL). Ako je volumen titranta utrošen u slijepoj probi veći od $0,1\text{ mL}$, promijeni se reagens i postupak ponovi.

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

c = koncentracija otopine natrijevog tiosulfata u molima po litru.

2.5.6. SAPONIFIKACIJSKI BROJ

01/2008:20506

Saponifikacijski broj I_s izražava količinu kalijevog hidroksida u miligramima potrebnu za neutralizaciju slobodnih kiselina i osapunjenje estera prisutnih u 1 g tvari.

Ako nije drugačije propisano, za određivanje se koriste količine navedene u Tabeli 2.5.6.-1.

Tabela 2.5.6.-1.

Pretpostavljeni saponifikacijski broj I_s	Količina uzorka (g)
<3	20
3 do 10	12 do 15
10 do 40	8 do 12
40 do 60	5 do 8
60 do 100	3 do 5
100 do 200	2,5 do 3
200 do 300	1 do 2
300 do 400	0,5 do 1

Stavi se propisana količina ispitivane supstance (mg) u tikvicu od borosilikatnog stakla volumena 250 mL , s povratnim hladilom. Doda se $25,0\text{ mL}$ $0,5\text{ M}$ alkoholne otopine kalijevog hidroksida i nekoliko staklenih kuglica. Spoji se hladilo i zagrijava 30 minuta, ako nije drugačije propisano. Doda se 1 mL otopine fenolftaleina R1 i

odmah titrira (dok je još vruće) sa 0,5 M hloridnom kiselinom (n_1 mL 0,5 M hloridne kiseline). Provede se slijepa proba u istim uslovima (n_2 mL 0,5 M hloridne kiseline).

$$I_s = \frac{28,05 \times (n_2 - n_1)}{m}$$

2.5.11. KOMPLEKSOMETRIJSKE TITRACIJE

01/2008:20511

ALUMINIJUM

Stavi se 20,0 mL propisanog rastvora u Erlenmeyer tikvicu od 500 mL, doda 25,0 mL 0,1 M natrijum etilendiamin tetra-acetata (Na-EDTA) i 10 mL smjese jednakih zapremina 155 g/L rastvora amonijevog acetata R i razrijeđene acetatne kiseline R. Kuha se dvije minute, zatim ohladi. Doda se 50 mL etanola R i 3 mL svježe pripremljenog 0,25 g/L rastvora ditizona R u etanolu R. Višak Na-EDTA-a se titrira sa 0,1 M rastvorom cinkovog sulfata do promjene boje iz zelenoplave u crvenoljubičastu.

1 mL 0,1 M Na-EDTA odgovara 2,698 mg Al.

BIZMUT

Propisan rastvor stavi se u Erlenmeyer tikvicu od 500 mL. Razblaži se do 250 mL vodom R, a zatim se, uz miješanje, osim ako nije drugačije propisano, dokapava koncentrovani rastvor amonijaka R dok se smjesa ne zamuti. Doda se 0,5 mL nitratne kiseline R. Zagrijava se na oko 70°C dok замуćenost potpuno ne nestane. Doda se oko 50 mg triturata ksilenol narandžasto R i titrira sa 0,1 M Na-EDTA do promjene boje iz ružičastoljubičaste u žutu.

1 mL 0,1 M Na-EDTA odgovara 20,90 mg Bi.

KALCIJUM

Propisan rastvor stavi se u Erlenmeyer tikvicu od 500 mL i razblaži vodom R do 300 mL. Doda se 6,0 mL rastvora natrijevog hidroksida R i oko 200 mg triturata kalkonkarboksilatne kiseline R. Titrira se sa 0,1 M Na-EDTA do promjene boje iz ljubičaste u izrazito plavu.

1 mL 0,1 M Na-EDTA odgovara 4,008 mg Ca.

MAGNEZIJUM

Propisan rastvor stavi se u Erlenmeyer tikvicu od 500 mL i razblaži vodom R do 300 mL. Doda se 10 mL rastvora pufera amonijum hlorida pH 10,0 R i oko 50 mg triturata mordant crnila 11 R. Zagrije se do oko 40°C, a zatim titrira na istoj temperaturi sa 0,1 M Na-EDTA do promjene boje iz ljubičaste u izrazito plavu.

1 mL 0,1 M Na-EDTA odgovara 2,431 mg Mg.

OLOVO

Propisan rastvor stavi se u Erlenmeyer tikvicu od 500 mL i razblaži vodom R do 200 mL. Doda se oko 50 mg triturata ksilenol narančasto R i heksametilentetramina R dok rastvor ne postane ljubičastoružičast. Titrira se sa 0,1 M Na-EDTA do promjene boje iz ljubičastoružičaste u žutu.

1 mL 0,1 M Na-EDTA odgovara 20,72 mg Pb.

CINK

Propisan rastvor stavi se u Erlenmeyer tikvicu od 500 mL i razblaži *vodom R* do 200 mL. Doda se oko 50 mg *triturata ksilenol narančasto R* i *heksametilentetramina R* dok rastvor ne postane ljubičastoružičast. Doda se još 2 g *heksametilentetramina R* u suvišku. Titrira se 0,1 M Na-EDTA do promjene boje iz ljubičastoružičaste u žutu.

1 mL 0,1 M Na-EDTA odgovara 6,54 mg Zn.

2.6.1. STERILNOST

04/2011:20601 korigovano 7.7

Test se primjenjuje na supstance, preparate ili proizvode koji, prema Farmakopeji, treba da budu sterilni. Međutim, zadovoljavajući rezultati samo ukazuju na to da u ispitivanom uzorku pod uvjetima odvijanja testa nije nađeno mikrobiološko onečišćenje.

MJERE OPREZA PROTIV KONTAMINACIJE MIKROORGANIZMIMA

Test sterilnosti se odvija pod aseptičnim uvjetima. Da bi se postigli takvi uvjeti, okruženje u kojem se ispitivanje provodi treba prilagoditi na odgovarajući način za ispitivanje sterilnosti. Oprez koji se poduzima da bi se izbjegla kontaminacija je takav da ne utiče ni na jedan mikroorganizam koji bi ispitivanjem trebalo otkriti. Radni uvjeti pod kojima se odvijaju testovi se redovno prate odgovarajućim uzorkovanjem radnog prostora i provođenjem odgovarajućih kontrola.

PODLOGE ZA UZGOJ I TEMPERATURE INKUBACIJE

Podloge za uzgoj se mogu pripremati prema dolje navedenom propisu ili se mogu koristiti gotove komercijalne podloge, pod uvjetom da zadovoljavaju ispitivanje promotivnog rasta.

Utvrđeno je da su sljedeće hranjive podloge pogodne za ispitivanje sterilnosti.

Tekuća tioglikolatna podloga je prvenstveno namijenjena za kulturu anaerobnih bakterija, međutim može odrediti i aerobne bakterije. Podloga koja sadrži hidrolizat soje i kazeina je pogodna za kulturu i gljivica i aerobnih bakterija.

Tekuća tioglikolatna podloga (TGB)

L-Cistin	0,5 g
Agar	0,75 g
Natrij klorid	2,5 g
Glukoza monohidrat/bezvodna	5,5 g/5,0 g
Ekstrakt kvasca (topiv u vodi)	5,0 g
Kazein hidroliziran pankreatinom	15,0 g
Natrij tioglikolat	0,5 g
ili tioglikolatna kiselina	0,3 mL
Resazurin natrij, otopina (1g/L resazurin natrija), svježe pripremljen	1,0 mL
Voda R	1000 mL

pH otopine nakon sterilizacije iznosi $7,1 \pm 0,2$.

Pomiješaju se L-cistin, agar, natrij klorid, glukoza, ekstrakt kvasca i kazein hidroliziran pankreatinom i otope se u destiliranoj vodi uz zagrijavanje. Otopi se natrij tioglikolat ili tioglikolatna kiselina u otopini, i ako je potrebno, otopini se doda 1 M natrij hidroksid, kako bi nakon sterilizacije otopina imala pH vrijednost od $7,1 \pm 0,2$. Ako je potrebno otopinu filtrirati, otopina se ponovo zagrije bez ključanja i filtrira vruća kroz ovlaženi filter papir. Otopini se zatim doda rezazurin natrij, pomiješa i podloga se stavi u prikladne posude koje osiguravaju takav odnos površine i dubine podloge da do promjene boje, koja ukazuje na vezivanje kisika, pred kraj vremena inkubacije ne dođe u više od gornje polovine podloge. Sterilizira se validiranim postupkom. Ukoliko se podloga čuva, čuva se na temperaturi između 2°C i 25°C u sterilnim zataljenim kontejnerima. Ako je više od gornje trećine podloge poprimilo ružičastu boju, podloga se može jednom obnoviti zagrijavanjem kontejnera u vodenom kupatilu ili na pari dok ružičasta boja ne nestane, nakon čega se brzo ohladi, vodeći računa da se spriječi uvođenje nesterilnog zraka u kontejner. Podloga se ne smije upotrebljavati nakon razdoblja čuvanja dužeg nego što je utvrđeno validacijom.

Tekuća tioglikolatna podloga se treba inkubirati na $30\text{--}35^{\circ}\text{C}$.

Za proizvode koji sadrže konzervanse na bazi žive i ne mogu se ispitati metodom membranske filtracije može se koristiti tekuća tioglikolatna podloga inkubirana na $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$ umjesto tekuće podloge od hidrolizata soje i kazeina, uz napomenu da je validirana kao što je opisano u testu promotivnog rasta.

Kada je propisano ili opravdano i odobreno, može se koristiti sljedeća alternativa tioglikolatnoj podlozi. Pripremi se smjesa istog sastava kao tekuća tioglikolatna podloga, ali izostavljajući agar i otopinu rezazurin natrija, smjesa se sterilizira, kao što je opisano. Nakon sterilizacije pH vrijednost iznosi $7,1 \pm 0,2$. Zagrije se u vodenom kupatilu prije upotrebe i inkubira na temperaturi $30\text{--}35^{\circ}\text{C}$ pod anaerobnim uvjetima.

Podloga od hidrolizata soje i kazeina

Kazein hidroliziran pankreatinom	17,0 g
Papainski hidrolizat sojinog brašna	3,0 g
Natrij klorid	5,0 g
Dikalij hidrogenfosfat	2,5 g
Glukoza monohidrat/bezvodni	2,5 g/2,3 g
Voda R	1000,0 mL

Nakon sterilizacije pH vrijednost podloge iznosi $7,3 \pm 0,2$.

Čvrste komponente se otope u destiliranoj vodi, uz slabo zagrijavanje, dok se sve komponente ne otope. Otopina se ohladi na sobnu temperaturu. Ukoliko je potrebno, doda se 1 M natrijev hidroksid, tako da nakon sterilizacije otopina ima pH vrijednost $7,3 \pm 0,2$. Ukoliko je potrebno, otopina se filtrira s ciljem da se izbistri, rasporedi u odgovarajuće posude i sterilizira validiranim postupkom. Čuva se na temperaturi od 2°C do 25°C u sterilnim dobro zatvorenim kontejnerima, s izuzetkom ukoliko se odmah koristi. Podloga se ne smije upotrebljavati nakon vremenskog razdoblja čuvanja koje je duže od roka utvrđenog validacijom.

Podloga se treba inkubirati na $20\text{--}25^{\circ}\text{C}$.

Korištena podloga odgovara sljedećim testovima, koji se provode prije ili paralelno s ispitivanjem proizvoda.

Ispitivanje sterilnosti podloga. Podloge se inkubiraju 14 dana. Ne dolazi do rasta mikroorganizama.

Test promotivnog rasta za aerobe, anaerobe i gljivice

Testira se svaka serija neposredno pripremljene podloge i svaka serija podloge pripremljene od dehidrirane podloge ili od sastojaka. Odgovarajući soj mikroorganizama za ispitivanje hranjivih svojstava podloge naveden je u Tabeli 2.6.1.-1.

Dio tekuće tioglikolatne podloge se inokulira malom količinom jednog od sljedećih mikroorganizama (najviše 100 CFU), koristeći odvojeno odgovarajuću količinu podloge za svaki od navedenih sojeva mikroorganizama: *Clostridium sporogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Inokulira se dio podloge koja sadrži hidrolizat zrna soje i kazeina malim brojem (najviše 100 CFU) sljedećih mikroorganizama, koristeći odvojeno podlogu za svaki soj dolje navedenih mikroorganizama: *Aspergillus*

brasiliensis, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*. Inkubira se najviše 3 dana u slučajevima gdje se testira rast bakterija i najviše 5 dana u slučajevima gdje se testira rast gljivica.

Mikroorganizmi koji se koriste u testu kao inokulum smiju maksimalno biti peta generacija dobijena precjepljivanjem sa čiste kulture.

Podloga za uzgoj je pogodna ukoliko se pojavljuje jasan vidljiv rast mikroorganizama.

Tabela 2.6.1.-1. Sojevi testnih mikroorganizama pogodni za ispitivanje hranjivosti podloga i test pogodnosti metode

Aerobne bakterije
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, CIP4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518, NBRC 13276 <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, CIP 52.62, NCIMB 8054, NBRC 3134 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275
Anaerobne bakterije
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532, ATCC 11437, NBRC 14293
Gljivice
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231, IP 48.72, NCPF 3179, NBRC 1594 <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404, IP 1431.83, IMI 149007, NBRC 9455

TEST POGODNOSTI METODE

Za test pogodnosti metode koriste se testovi koji su dolje navedeni, osim u slučajevima gdje se koriste slične ili donekle modificirane metode.

Membranska filtracija

Nakon prenošenja sadržaja jednog ili više pakovanja testiranog uzorka na membranu, doda se inokulum malog broja živih mikroorganizama (ne više od 100 CFU) u posljednju porciju sterilnog otapala kojim se ispire filter.

Direktna inokulacija

Nakon prenošenja sadržaja jednog ili više pakovanja ispitivanog lijeka (za katgut i drugi kirurški konac za veterinarsku primjenu koriste se vlakna) u podlogu, doda se inokulum malog broja živih mikroorganizama (najviše 100 CFU). U oba slučaja koriste se isti mikroorganizmi kako je navedeno za ispitivanje hranjivosti podloga za aerobe, anaerobe i gljivice. Provede se test ispitivanja hranjivosti podloga kao pozitivna kontrola. Inkubacija se provodi pod gore navedenim uvjetima, ali najviše 5 dana.

Ako je jasno vidljiv rast mikroorganizama nakon inokulacije u poređenju sa kontrolnim uzorkom bez proizvoda, ili proizvod nema antimikrobno djelovanje (u uvjetima testa) ili je aktivnost uspješno eliminirana. Test sterilnosti se može provesti bez dalje modifikacije. Ako jasno vidljiv rast mikroorganizama nije dobijen u prisustvu ispitivanog produkta, znači da uzorak ima antimikrobno djelovanje koje nije uklonjeno u uvjetima testa. Potrebno je modificirati uvjete pod kojima se odvija test u cilju eliminiranja antimikrobnog djelovanja, te ponoviti ispitivanje pogodnosti metode.

Test pogodnosti metode se izvodi:

- a) kada se ispituje sterilnost novog proizvoda;
- b) kada se mijenjaju eksperimentalni uvjeti testa.

Test pogodnosti metode se može provoditi istovremeno sa testom sterilnosti proizvoda koji se ispituje (ali prije interpretacije rezultata).

ISPITIVANJE STERILNOST ISPITIVANOG PROIZVODA

Test se može provesti korištenjem tehnike membranske filtracije ili direktnom inokulacijom hranjive podloge sa ispitivanim proizvodom. Odgovarajuće negativne kontrole su uključene. Tehnika membranske filtracije se

koristi uvijek gdje to priroda proizvoda omogućava, kao što su vodeni preparati koji se mogu filtrirati, za alkoholne ili uljne preparate i za preparate koji se miješaju ili otapaju u vodenim ili uljnim otapalima, pod uvjetom da ova otapala nemaju antimikrobno djelovanje u uvjetima ispitivanja.

Membranska filtracija. Koristi se membranski filter veličine pora najviše μm , čija je efikasnost u zadržavanju mikroorganizama dokazana. Celulozno nitratni filteri koriste se za vodene, uljane i razblažene alkoholne otopine, a celulozno acetatni filteri npr. za koncentrirane alkoholne otopine. Posebno prilagođeni filteri se koriste za određene proizvode, npr. antibiotike. Tehnika opisana u daljem tekstu pretpostavlja upotrebu membrane promjera oko 50 mm. Ako se koriste filteri drugačijih dimenzija, volumeni otopine uzorka i otopine za ispiranje moraju se podesiti. Aparaturu za filtriranje i membrane potrebno je prethodno sterilizirati validiranim postupkom sterilizacije. Aparatura je tako napravljena da omogućava da se ispitivana otopina može filtrirati pod aseptičkim uvjetima; omogućava aseptičko uklanjanje membrane radi prenosa na hranjivu podlogu ili se inkubacija može provesti u aparatu nakon dodatka hranjive podloge.

Vodene otopine. Ako je pogodno, na membranu u aparatu prenese se mala količina odgovarajućeg sterilnog otapala kao što je 1 g/L neutralne otopine mesnog ili kazeinskog peptona pH $7,1 \pm 0,2$ i filtrira. Otapalo može sadržavati i odgovarajuću neutralizirajuću supstancu ili odgovarajuću inaktivirajuću supstancu, npr. u slučaju testiranja antibiotika.

Na membranu ili membrane prenese se sadržaj ili sadržaji kontejnera koji se ispituju, ako je potrebno, nakon razrjeđenja do volumena koji se koristi u ispitivanju pogodnosti metode sa odabranim sterilnim otapalom, uzimajući ne manje od količine uzorka koja je navedena u Tabeli 2.6.1.-2. Odmah se profiltrira. Ako proizvod ima antimikrobno djelovanje, membranu isprati najmanje 3 puta količinom sterilnog otapala prema rezultatima dobijenim u testu pogodnosti metode. Najveći broj dozvoljenih ciklusa ispiranja je $5 \times 100 \text{ mL}$ po filteru, čak i ako se tokom testa pogodnosti metode pokaže da navedenim ispiranjem nije u potpunosti eliminirano antimikrobno djelovanje. Cijela membrana se prenese na podlogu ili se aseptički presiječe na dva jednaka dijela pa svaka polovina prenese u svaku od dvije odgovarajuće podloge. Koristi se isti volumen podloge kao kod testa pogodnosti metode. Alternativno, prebaciti podlogu na membranu u aparatu. Inkubirati podloge najmanje 14 dana.

Čvrste topive supstance. Za svaku podlogu koristiti količinu koja nije manja od količine proizvoda koja je navedena u Tabeli 2.6.1.-2, otopljenog u odgovarajućem otapalu kao što je otapalo koje dođe uz preparat, voda za injekcije, izotonična otopina natrij klorida ili 1 g/L neutralne otopine mesnog ili kazeinskog peptona i nastaviti sa testom kako je gore opisano za vodene otopine, koristeći membranu koja odgovara odabranom otapalu.

Ulja i uljane otopine. Za svaku podlogu upotrijebi se ne manje od količine proizvoda date u Tabeli 2.6.1.-2. Ulja i uljane otopine dovoljno niske viskoznosti mogu se filtrirati bez razrjeđivanja kroz suhu membranu. Viskozna ulja se mogu otopiti ako je potrebno odgovarajućim sterilnim otapalom kao što je izopropil miristat, za koji se zna da nema antimikrobno djelovanje u uvjetima testa. Pusti se ulje da prođe kroz membranu pomoću svoje sopstvene težine i potom se filtrira primjenjujući tlak ili građuirano usisavanje. Membrana se ispere najmanje 3 puta, svaki put filtriranjem oko 100 mL odgovarajuće sterilne otopine, kao što je 1 g/L neutralnog mesnog ili kazeinskog peptona, koji sadrži odgovarajući emulgirajući agens u koncentraciji koja se pokazala odgovarajućom u ispitivanju prikladnosti metode, naprimjer polisorbata 80 u koncentraciji 10 g/L. Prenese se membrana ili membrane u hranjivu podlogu ili hranjive podloge ili obrnuto, kako je gore opisano za vodene otopine, i inkubira se na istim temperaturama i kroz isto vrijeme.

Masti i kreme. Za svaku podlogu upotrijebiti minimalnu količinu proizvoda datu u Tabeli 2.6.1.-2. Ulja u masnoj podlozi i emulzije tipa voda u ulju se mogu otopiti do 1% u izopropil miristatu, kao što je gore opisano, zagrijavanjem, po potrebi, najviše do 40°C . U izuzetnim slučajevima može biti potrebno zagrijavanje najviše do 44°C . Filtrira se najbrže što je moguće, te se nastavi po proceduri koja je prethodno opisana za ulja i uljane otopine.

Tabela 2.6.1.-2. Najmanje količine koje bi se trebale koristiti za svaku hranjivu podlogu

Količina po kontejneru	Najmanja količina koju treba koristiti za svaku podlogu, ukoliko nije drugačije opravdano i propisano
<p><i>Tekućine</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • manje od 1 mL • 1–40 mL • više od 40 mL i manje od 100 mL • više od 100 mL <p><i>Tekućine sa antibioticima</i></p>	<p>Cijeli sadržaj pojedinačnog kontejnera Pola sadržaja pojedinačnog kontejnera, ali najmanje 1 mL 20 mL</p> <p>10% sadržaja pojedinačnog kontejnera, ali najmanje 20 mL</p> <p>1mL</p>
<p><i>Netopivi preparati, kreme i masti koji bi se trebali suspendirati ili emulgirati</i></p>	<p>Cijeli sadržaj pojedinačnog kontejnera koji osigurava najmanje 200 mg</p>
<p><i>Čvrste tvari</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • manje od 50 mg • 50 mg ili više, ali manje od 300 mg • 300 mg do 5 g • više od 5 g 	<p>Cijeli sadržaj svakog pojedinačnog kontejnera Pola sadržaja svakog pojedinačnog kontejnera, ali najmanje 50 mg</p> <p>150 mg</p> <p>500 mg</p>
<p><i>Ketgut i ostali kirurški konci za šivanje za veterinarsku upotrebu</i></p>	<p>3 dijela niti (svaka 30 cm dužine)</p>

Direktna inokulacija hranjivih podloga. Prenesi količinu ispitivanog preparata propisanu u Tabeli 2.6.1.-2. direktno u hranjivu podlogu tako da volumen proizvoda nije veći od 10% volumena podloge, ukoliko nije drugačije propisano.

Ako ispitivani proizvod ima antimikrobno djelovanje, test treba provesti nakon neutralizacije antimikrobnog sa odgovarajućom neutralizirajućom supstancom ili razrjeđivanjem u dovoljnoj količini hranjive podloge. Kada je potrebno uzeti veliki volumen proizvoda, možda bi bilo podesnije koristiti koncentrirane hranjive podloge pripremljene na takav način da se uzima vrijednost sljedećeg razrjeđenja. Kada je potrebno, koncentrirana podloga se može direktno dodati proizvodu u njegovom kontejneru.

Uljne tekućine. Koristi se podloga u kojoj je dodana odgovarajuća količina emulgirajućeg agensa u koncentraciji koja je odgovarajuća za test pogodnosti metode, npr. polisorbata 80 u koncentraciji 10 g/L.

Masti i kreme. Pripreme se otapanjem u odnosu oko 1:10 emulgiranjem odabranim emulgirajućim agensom u pogodnom sterilnom otapalu, kao što je 1 g/L neutralne otopine mesnog ili kazeinskog peptona. Otopljeni uzorak se prenese u podlogu koja ne sadrži emulgirajuće agense.

Inokulirana podloga inkubira se najmanje 14 dana. Kulture se posmatraju nekoliko puta tokom perioda inkubacije. Kulture koje sadrže uljne proizvode treba lagano protresti svaki dan. U slučaju kada se koristi tekući tioglikolat kao podloga za detekciju anaerobnih bakterija, protresanje ili miješanje treba svesti na minimum, kako bi se održali anaerobni uvjeti.

Ketgut i drugi kirurški konac za primjenu u veterini

Za svaku podlogu upotrijebi se količina proizvoda koja nije manja od propisane količine navedene u Tabeli 2.6.1.-2. Otvori se zatvoreni pakovni materijal pod aseptičnim uvjetima i uzmu po 3 dijela vlakna za svaku hranjivu podlogu. Ispitivanja se provedu na 3 dijela, svaki duljine 30 cm, odsječen sa početka, sredine i kraja vlakna. Upotrijebe se cijela vlakna iz svježe otvorenog zbirnog pakovanja (engl. *cassette pack*). Prenijeti svaki dio vlakna u odabrani medij. Uzeti dovoljnu količinu medija da potpuno pokrije ispitivani materijal (20 mL do 150 mL).

OČITANJE I INTERPRETACIJA REZULTATA

Porast mikroorganizama u podlozi ispituje se makroskopski u toku perioda inkubacije i po njenom završetku. Ako ispitivani materijal zamuti podlogu tako da se prisustvo ili odsustvo rasta mikroorganizama ne može odrediti vizuelnom ocjenom, 14 dana nakon početka inkubacije prenese se odgovarajuća količina podloge (najmanje 1 mL) u drugu posudu sa svježe pripremljenom istom podlogom i nastavi se inkubacija (originalne i prenesene podloge) najmanje 4 dana.

Ako nema rasta mikroorganizama, ispitivani proizvod odgovara zahtjevima testa sterilnosti. Ako ima rasta mikroorganizama, ispitivani proizvod ne odgovara zahtjevu testa sterilnosti, osim ako se jasno može dokazati da test nije validan uslijed uzroka koji se ne odnose na proizvod koji se ispituje. Može se smatrati da ispitivanje nije validno ako je ispunjen jedan ili više od sljedećih uvjeta:

- podaci o mikrobiološkom praćenju uvjeta ispitivanja sterilnosti pokazuju da postoje greške;
- pregledom procedure ispitivanja ustanovi se da postoji greška;
- nađe se porast mikroorganizama u negativnoj kontroli;
- nakon određivanja identiteta mikroorganizma izoliranih u ispitivanju, rast ove ili ovih vrsta nedvosmisleno se može pripisati greškama vezanim uz materijal i/ili tehniku koja je korištena u postupku ispitivanja sterilnosti.

Ako se ispitivanje proglasi nevalidnim, ponavlja se istim brojem uzoraka kao i kod originalnog ispitivanja.

Ako nema rasta mikroorganizama u ponovljenom testu, ispitivani proizvod odgovara zahtjevima testa sterilnosti.

Ako je rast mikroorganizama utvrđen u ponovljenom testu, ispitivani proizvod ne odgovara propisanim zahtjevima za sterilnost.

PRIMJENA TESTA ZA PARENTERALNE PREPARATE, OFTALMOLOŠKE I DRUGE NEINJEKCIJNE PREPARATE ZA KOJE SE ZAHTIJEVA DA ODGOVARAJU TESTU STERILNOSTI

Kada se koristi tehnika membranske filtracije, koristi se, kad god je to moguće, cijeli sadržaj pojedinačnog kontejnera, ali ne količina manja nego što je naznačeno u Tabeli 2.6.1.-2, uz razblaženje, kada je neophodno, do 100 mL pogodnom sterilnom otopinom, kao što je 1 g/L neutralne otopine mesnog ili kazeinskog peptona.

Kada se koristi tehnika direktne inokulacije medija, koriste se količine navedene u Tabeli 2.6.1.-2, osim ukoliko nije drugačije opravdano i odobreno. Test za sterilnost na bakterije i gljivice provodi se na istom proizvodu koji se ispituje. Kada je volumen ili količina u pojedinačnom pakovanju nedovoljna da bi se proveo test, koristi se sadržaj dva ili više pakovanja za inokulaciju različitih podloga.

MINIMALAN BROJ UZORAKA KOJI SE TESTIRAJU

Minimalan broj uzoraka koji se testiraju u skladu sa veličinom serije dat je u Tabeli 2.6.1.-3.

Vodič za ispitivanje sterilnosti dat je u općem poglavlju 5.1.9.

Tabela 2.6.1.-3. Najmanji broj ispitivanih jedinica

Broj jedinica u seriji*	Minimalni broj jedinica koje bi trebalo testirati za svaku podlogu, ukoliko drugačije nije opravdano i odobreno**
Preparati za parenteralnu upotrebu <ul style="list-style-type: none"> ne više od 100 kontejnera više od 100, ali manje od 500 kontejnera više od 500 kontejnera 	10% ili 4 kontejnera, šta je veće 10 kontejnera 2% ili 20 kontejnera (10 kontejnera za parenteralne preparate velikog volumena), šta je manje

Broj jedinica u seriji*	Minimalni broj jedinica koje bi trebalo testirati za svaku podlogu, ukoliko drugačije nije opravdano i odobreno**
<i>Oftalmološki i drugi neinjekcioni preparati</i> <ul style="list-style-type: none"> ne više od 200 kontejnera više od 200 kontejnera ako se proizvod nalazi u jednodoznim kontejnerima, primjenjuje se shema koja je data za proizvode za parenteralnu upotrebu (gore) 	5% ili 2 kontejnera, šta je veće 10 kontejnera
<i>Ketgut i drugi kirurški konci za šivanje za veterinarsku upotrebu</i>	2% ili 5 kontejnera, šta je veće, do najviše ukupno 20 kontejnera
<i>Bulk čvrsti preparati</i> <ul style="list-style-type: none"> do 4 kontejnera više od 4 kontejnera, ali manje od 50 kontejnera više od 50 kontejnera 	Svaki kontejner 20% ili 4 kontejnera, šta je veće 2% ili 10 kontejnera, šta je veće
* Ukoliko veličina serije nije poznata, koristi se najveći broj propisanih jedinica. ** Ako je sadržaj jednog kontejnera dovoljan za inokulaciju dvije podloge, ova kolona daje broj kontejnera potrebnih za obje podloge zajedno.	

2.6.12. MIKROBIOLOŠKO ISPITIVANJE NESTERILNIH PROIZVODA: TESTOVI BROJANJA MIKROORGANIZAMA

01/2021:20612

1. UVOD

Opisanim ispitivanjima je omogućeno određivanje ukupnog broja mezofilnih bakterija i gljivica koje mogu rasti u aerobnim uvjetima.

Ispitivanja su prvenstveno osmišljena kako bi se utvrdilo da li supstanca ili preparat odgovara postavljenoj specifikaciji za mikrobiološku čistoću. Kada se ispitivanja koriste za tu svrhu, slijede se dolje navedene upute, uključujući broj uzoraka koje je potrebno uzeti, i tumačenje rezultata kako je navedeno u daljem tekstu.

Metode nisu primjenjive za proizvode koji kao aktivnu supstancu sadrže žive mikroorganizme.

Alternativne mikrobiološke procedure, uključujući automatizirane metode, mogu se koristiti ukoliko je dokazana njihova ekvivalentnost sa farmakopejskom metodom.

2. OPĆE PROCEDURE

Određivanje se provodi pod uvjetima koji isključuju mogućnost slučajne mikrobiološke kontaminacije ispitivanog proizvoda. Mjere predostrožnosti koje se primjenjuju kako bi se izbjegla kontaminacija moraju biti takve da ne utiču na mikroorganizme koje ispitivanjem treba otkriti.

Ako proizvod koji se ispituje posjeduje antimikrobnu aktivnost, ona mora biti uklonjena ili neutralizirana koliko je to moguće. Ako se za ovu svrhu koriste inaktivatori, njihova efikasnost i netoksičnost na mikroorganizme mora biti dokazana.

Ukoliko se za pripremu uzorka koriste površinski aktivne supstance, mora biti dokazana njihova netoksičnost na mikroorganizme, kao i kompatibilnost sa upotrijebljenim inaktivatorima.

3. METODE BROJANJA

Koristi se metoda membranske filtracije ili metoda brojanja na pločama, kao što je propisano. Metoda najvjerovatnijeg broja (engl. *most-probable-number MPN method*)* je općenito najmanje tačna metoda brojanja mikroorganizama, ali ipak može biti najpogodnija metoda za određenu grupu proizvoda sa vrlo malim biološkim opterećenjem.

Izbor metode se temelji na različitim faktorima, kao što je priroda proizvoda i zahtijevani limit za mikroorganizme. Odabrana metoda mora omogućiti ispitivanje uzorka dovoljne veličine kako bi se utvrdila usklađenost sa specifikacijom. Pogodnost odabrane metode mora biti utvrđena.

* - MPN (engl. *Most-probable-number method*) – metoda najvjerovatnijeg broja.

4. TEST PROMOCIJE RASTA (engl. *GROWTH PROMOTION TEST*), POGODNOST METODE BROJANJA I NEGATIVNE KONTROLE

4.1. OPĆE NAPOMENE

Mora biti dokazana sposobnost testa za detekciju mikroorganizama u prisustvu proizvoda.

Pogodnost ispitivanja mora biti potvrđena u slučaju izmjena u izvođenju testa ili proizvoda koji se ispituje, a koje mogu uticati na ishod uvedenog ispitivanja.

4.2. PRIPREMA TESTNIH SOJEVA

Koriste se standardizirane, stabilne suspenzije testnih sojeva ili se pripreme kako je navedeno u daljem tekstu. Tehnike presijavanja (održavanja) kultura (engl. *seed-lot systems*) se koriste tako da živi mikroorganizmi namijenjeni za inokulaciju ne smiju biti presijavani više od 5 puta (5 pasaža) iz originalne kulture. Rast svakog od testnih sojeva bakterije i gljivice je posebno opisan u Tabeli 2.6.12.-1.

Za izradu testnih suspenzija koristi se puferirana otopina natrij klorid-peptona pH 7,0 ili otopina fosfatnog pufera pH 7,2; za suspendiranje spora *A. brasiliensis* u pufer se može dodati 0,05%-tna otopina polisorbata 80. Pripremljenu suspenziju upotrijebiti unutar 2 sata, ili unutar 24 sata ako se čuva na 2–8°C. Druga mogućnost za pripremu i razrjeđivanje svježe suspenzije vegetativnih stanica *A. brasiliensis* ili *B. subtilis* je priprema stabilne suspenzije spora, a zatim se odgovarajući volumen suspenzije spora koristi za test inokulacije. Stabilna suspenzija spora se održava na 2–8°C kroz validirani vremenski period.

4.3. NEGATIVNA KONTROLA

Za provjeru pogodnosti uvjeta ispitivanja primjenjuje se negativna kontrola gdje se umjesto ispitivanog preparata koristi odabrano sredstvo za razrjeđivanje. Ne smije doći do porasta mikroorganizama. Negativna kontrola se također provodi kada ispitujemo proizvode, kao što je opisano u poglavlju 5. Neuspjelu negativnu kontrolu potrebno je istražiti.

4.4. PROMOCIJA RASTA HRANJIVE PODLOGE

Potrebno je ispitati svaku seriju gotove podloge i svaku seriju podloge pripremljene od dehidrirane podloge ili od propisanih sastojaka.

Inokulira se dio podloge/ploče sa Kazein soja bujonom i Kazein soja agarom malim brojem (ne više od 100 CFU) mikroorganizama navedenih u Tabeli 2.6.12.-1. tako da se za svaki mikroorganizam koristi odvojeni dio podloge/ploče. Inokulirati ploče sa Saburo dektroznim agarom malim brojem (ne više od 100 CFU)

mikroorganizama navedenih u Tabeli 2.6.12.-1. koristeći za svaki mikroorganizam odvojeni dio podloge/ploče. Inkubirati u uvjetima navedenim u Tabeli 2.6.12.-1.

Za čvrste podloge dobijeni rast ne smije se razlikovati više od faktora 2 za preračunatu vrijednost standardiziranog inokuluma. Za svježe pripremljen inokulum pojavljuje se rast mikroorganizama uporediv sa prethodno dobijenim, na prethodno ispitanoj i odobrenoj seriji podloge. Tekuće podloge odgovaraju testu ako je jasno vidljiv rast mikroorganizama uporediv s prethodno dobijenim na prethodno ispitanoj i odobrenoj podlozi.

Tabela 2.6.12.-1. Priprema i upotreba testnih mikroorganizama

Mikroorganizam	Priprema testnih sojeva	Promocija rasta		Pogodnost metode brojanja u prisustvu uzorka	
		Ukupan broj aerobnih mikroorganizama	Ukupan broj gljivica i plijesni	Ukupan broj aerobnih mikroorganizama	Ukupan broj gljivica i plijesni
<i>Staphylococcus aureus</i> kao što su: ATCC 6538 NCIMB 9518 CIP 4.83 NBRC 13276	Kazein soja agar ili kazein soja bujon 30–35°C 18–24 h	Kazein soja agar ili kazein soja bujon ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 3 dana	–	Kazein soja agar / MPN kazein soja bujon ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 3 dana	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> kao što su: ATCC 9027 NCIMB 8626 CIP 82.118 NBRC 13275	Kazein soja agar ili kazein soja bujon 30–35°C 18–24 h	Kazein soja agar ili kazein soja bujon ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 3 dana	–	Kazein soja agar / MPN kazein soja bujon ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 3 dana	–
<i>Bacillus subtilis</i> kao što su: ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	Kazein soja agar ili kazein soja bujon 30–35°C 18–24 h	Kazein soja agar ili kazein soja bujon ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 3 dana	–	Kazein soja agar / MPN kazein soja bujon ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 3 dana	–
<i>Candida albicans</i> kao što su: ATCC 10231 NCPF 3179 IP 48.72 NBRC 1594	Saburo dekstrozni agar ili Saburo dekstrozni bujon 20–25°C 2–3 dana	Kazein soja agar ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 5 dana	Saburo dekstrozni agar ≤ 100 CFU 20–25°C ≤ 5 dana	Kazein soja agar ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 5 dana MPN: nije primjenjiv	Saburo dekstrozni agar ≤ 100 CFU 20–25°C ≤ 5 dana
<i>Aspergillus niger</i> kao što su: ATCC 16404 IMI 149007 IP 1431.83 NBRC 9455	Saburo dekstrozni agar ili krompirov dekstrozni agar 20–25°C 5–7 dana, ili do zadovoljavajuće sporulacije	Kazein soja agar ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 5 dana	Saburo dekstrozni agar ≤ 100 CFU 20–25°C ≤ 5 dana	Kazein soja agar ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 5 dana MPN: nije primjenjiv	Saburo dekstrozni agar ≤ 100 CFU 20–25°C ≤ 5 dana

4.5. POGODNOST METODE BROJANJA U PRISUTNOSTI PROIZVODA

4.5.1. Priprema uzorka

Metoda pripreme uzorka ovisi o fizičkim karakteristikama proizvoda koji se ispituje. Ukoliko niti jedan od postupaka opisanih u daljem tekstu nije zadovoljavajući, mora se razviti alternativni postupak.

Proizvodi topivi u vodi. Ispitivani proizvod se otopi ili razrijedi (obično razrjeđenje 1 u 10) u puferiranoj otopini natrij klorid-peptona pH 7,0, otopini fosfatnog pufera pH 7,2 ili kazein soja bujona. Ukoliko je potrebno, podesi se pH vrijednost na pH 6–8. Dalja se razblaženja, ukoliko je potrebno, pripremaju istim sredstvom za razblaživanje.

Nemasni proizvodi netopivi u vodi. Ispitivani proizvod se suspendira (obično razrjeđenje 1 u 10) u puferiranoj otopini natrij klorid-peptona pH 7,0, otopini fosfatnog pufera pH 7,2 ili kazein soja bujona. Površinski aktivna supstanca kao što je 1 g/L polisorbata 80 može se dodati u cilju poboljšanja suspendiranja supstanci sa slabo izraženom osobinom vlaženja. Ako je potrebno, podesi se pH vrijednost na pH 6–8. Dalja se razblaženja, ukoliko je potrebno, pripremaju istim sredstvom za razblaživanje.

Masni proizvodi. Ispitivani se proizvod otopi u izopropil miristatu steriliziranom postupkom filtracije ili se proizvod miješa sa najmanjom potrebnom količinom sterilnog polisorbata 80 ili drugom neinhibirajućom sterilnom površinski aktivnom supstancom, zagrijanom, ako je potrebno, na temperaturi ne višoj od 40°C, ili u posebnim slučajevima na temperaturu ne višu od 45°C. Pažljivo se miješa i, ako je potrebno, drži na odgovarajućoj temperaturi u vodenom kupatilu. Nakon toga doda se potrebna količina zagrijanog sredstva za razrjeđivanje da bi se dobilo razrjeđenje 1 u 10 originalnog proizvoda. Pažljivo se miješa uz istovremeno održavanje temperature u najkraćem potrebnom vremenu da nastane emulzija. Dalji niz desetorostrukih razrjeđenja može se pripremiti odabranim sredstvom za razrjeđenje koje sadrži odgovarajuću koncentraciju polisorbata 80 ili druge neinhibirajuće sterilne površinski aktivne supstance.

Tekućine ili čvrste tvari u formi aerosola. Proizvod se aseptično prenese u aparaturu za membransku filtraciju ili sterilnu posudu za uzorkovanje. Koristi se ili ukupan sadržaj ili definirani broj odmjernih doza iz svakog ispitivanog pakovanja.

Transdermalni flasteri. Skine se zaštitna navlaka (engl. *release liners*) transdermalnih flastera i postavi se adhezivnom stranom okrenutom nagore u sterilnu staklenu ili plastičnu posudu. Prekrije se adhezivna površina sterilnim poroznim materijalom, naprimjer sterilnom gazom, da se spriječi međusobno sljepljivanje flastera i flasteri se prenesu u pogodan volumen odabranog sredstva za razrjeđenje, koje sadrži odgovarajuće inaktivatore kao što je polisorbata 80 i/ili lecitin. Snažno se mučka najmanje 30 minuta.

Oralni disperzibilni filmovi Otopi se 10 ispitivanih filmova u puferiranoj otopini natrijevog klorida i peptona pH 7,0, otopini fosfatnog pufera pH 7,2 ili kazein soja bujona. Za postizanje otapanja može biti potrebno zagrijavanje preparata na ne više od 40 °C ili u iznimnim slučajevima na ne više od 45 °C, sa ili bez miješanja. Ukoliko je potrebno, podesi se pH vrijednost na pH 6–8. Dalja se razblaženja, ukoliko je potrebno, pripremaju istim sredstvom za razblaživanje.

4.5.2. Inokulacija i razrjeđivanje

U uzorak pripremljen na gore opisani način (4.5.1) i u kontrolu (bez ispitivanog preparata) doda se dovoljan volumen suspenzije mikroorganizma da se dobije inokulum od najviše 100 CFU. Volumen suspenzije inokuluma ne bi trebao biti veći od 1% volumena razrijeđenog proizvoda.

Da bi se pokazao prihvatljiv mikrobiološki *recovery* proizvoda, u testu mora biti korišten najmanji mogući faktor razrjeđenja pripremljenog uzorka. Kad to nije moguće postići, zbog antimikrobne aktivnosti ili loše topivosti, moraju se razviti dalji protokoli. Ukoliko nije moguće izbjeći inhibiciju rasta u uzorku, alikvot suspenzije mikroorganizma se može dodati nakon neutralizacije, razrjeđenja ili filtracije.

4.5.3. Neutralizacija/uklanjanje antimikrobne aktivnosti

Broj mikroorganizama dobijen od pripremljenog razrjeđenja uzorka opisano u 4.5.2. i inkubiran prema proceduri 4.5.4. uporedi se sa brojem mikroorganizama dobijenim od kontrolnog preparata.

Ukoliko je rast inhibiran (redukcija faktorom većim od 2), potrebno je prilagoditi proceduru brojanja da se osigura validnost rezultata. Modifikacija procedure može uključiti naprimjer: (1) povećanje volumena otapala ili hranjive podloge; (2) dodavanje specifičnih ili općih neutralizirajućih agenasa u otapalo; (3) membransku filtraciju ili (4) kombinaciju navedenih mjera.

Neutralizirajući agensi. Neutralizirajući agensi se mogu koristiti za neutralizaciju aktivnosti antimikrobnih supstanci (Tabela 2.6.12.-2). Oni mogu biti dodani u odabrano otapalo ili podlogu, najbolje prije sterilizacije. Ako se upotrebljavaju, njihova efikasnost i odsustvo toksičnosti na mikroorganizme moraju biti dokazani provedenjem slijepe probe sa neutralizatorom i bez proizvoda.

Ukoliko nije pronađen pogodan metod neutralizacije, može se pretpostaviti da je nemogućnost izolacije inokuliranog organizma posljedica mikrobicidne aktivnosti proizvoda. Ova informacija ukazuje na to da proizvod nije podložan kontaminaciji datim vrstama mikroorganizama. Ipak, postoji mogućnost da proizvod inhibira samo neke od navedenih mikroorganizama, a ne inhibira druge, koji nisu među testnim sojevima ili za koje ovi sojevi nisu reprezentativni. U tom slučaju test se provodi sa najvećim faktorom razblaženja koji je kompatibilan sa rastom mikroorganizama i specifičnim kriterijem prihvatljivosti.

Tabela 2.6.12.-2. Uobičajena sredstva za neutralizaciju interferirajućih supstanci

Interferirajuća supstanca	Potencijalna metoda neutralizacije
Glutaraldehyd, živini spojevi	Natrijev hidrogensulfid (natrijev bisulfid)
Fenoli, alkoholi, aldehidi, sorbati	Razrjeđivanje
Aldehidi	Glicin
Kvarterne amonijeve soli (QACs), parahidrobenzoati (parabeni), bisbigvanidi	Lecitin
Kvarterne amonijeve soli (QACs), jod, parabeni	Polisorbat
Živini spojevi	Tioglikolat
Živini spojevi, halogeni, aldehidi	Tiosulfat
EDTA (edetat)	Mg ²⁺ ili Ca ²⁺ joni

4.5.4. Rast mikroorganizama u prisustvu proizvoda

Za svaki navedeni mikroorganizam potrebno je provesti odvojeno ispitivanje. Broje se samo mikroorganizmi dodanih testnih sojeva.

4.5.4.1. Membranska filtracija

Koristi se membranski filter sa veličinom pora ne većom od 0,45 µm. Vrsta materijala od kojeg je filter napravljen odabere se tako da sastojci uzorka koji se ispituje ne utiču na efikasnost zadržavanja bakterija. Za svaki od navedenih mikroorganizama koristi se jedan membranski filter.

Odgovarajuća količina uzorka pripremljenog kako je opisano od 4.5.1. do 4.5.3. (najčešće 1 g proizvoda, ili manje ukoliko se očekuje veći broj mikroorganizama) prenese se kroz membranski filter, odmah filtrira i membrana filtera se ispere odgovarajućim volumenom otapala.

Za određivanje ukupnog broja aerobnih mikroorganizama (engl. *Total Aerobic Microbial Count* – TAMC)* membranski filter se prenese na površinu kazein soja agara. Za određivanje ukupnog broja kvasnica i plijesni (engl. *Total Combined Yeasts/Moulds Count* – TYMC)* membranski filter se prenese na površinu saburo dekstroznog agara (*Sabouraud-dextrosa* agar). Ploče se inkubiraju kako je navedeno u Tabeli 2.6.12.-1. Provede se brojanje.

*TAMC (engl. *Total Aerobic Microbial Count*) – ukupni broj aerobnih mikroorganizama.
TYMC (engl. *Total Mombined Yeasts/mould Count*) – ukupni broj kvasnica i plijesni.

4.5.4.2. Metoda brojanja na ploči

Postupak brojanja na ploči se provodi najmanje u duplikatu za svaku upotrijebljenu podlogu, te se uzima srednja vrijednost kao rezultat.

4.5.4.2.1. Metoda izlivanja u tekuću podlogu

U Petrijeve posude promjera 9 cm doda se 1 mL uzorka pripremljenog prema proceduri kako je opisano od 4.5.1. do 4.5.3. i 15 do 20 mL kazein soja bujona ili saburo dekstroznog agara tako da obje podloge ne smiju biti toplije od 45°C. Ukoliko se koriste veće Petrijeve posude, potrebno je proporcionalno povećati količine dodatih podloga. Za svaki mikroorganizam naveden u Tabeli 2.6.12.-1. koriste se najmanje 2 Petrijeve posude. Ploče se inkubiraju kao što je opisano u Tabeli 2.6.12.-1. U izračun se uzima aritmetička sredina prebrojana po podlozi i izračuna broj CFU u originalnom inokulumu.

4.5.4.2.2. Metoda razmazivanja po površini podloge

U Petrijeve posude promjera 9 cm doda se po 15–20 mL kazein soja agara ili saburo dekstroznog agara, temperature oko 45°C, u svaku Petrijevu posudu i pusti da očvrstne. Ukoliko se koriste veće Petrijeve posude, potrebno je proporcionalno povećati količine podloge agara. Ploče se osuše, naprimjer u laminarnoj komori ili u inkubatoru. Za svaki mikroorganizam naveden u Tabeli 2.6.12.-1. upotrijebe se najmanje dvije Petrijeve posude. Odmjereni volumen od najmanje 0,1 mL uzorka pripremljenog prema proceduri opisanoj od 4.5.1. do 4.5.3. razlije se na površinu podloge. Ploče se inkubiraju prema proceduri opisanoj u 4.5.4.2.1.

4.5.4.3. Metoda najvjerovatnijeg broja (engl. *Most-Probable-Number* – MPN)

Preciznost i tačnost MPN metode je manja od metode membranske filtracije ili metode brojanja na ploči. Nepouzdana rezultati se dobivaju posebno kod određivanja broja plijesni. Iz ovih razloga metoda MPN se koristi za određivanje broja TAMC u slučajevima kada drugi postupci određivanja nisu mogući. Ukoliko je upotreba metode opravdana, postupak je sljedeći:

pripremi se niz od najmanje 3 serije desetostrukih razrjeđenja proizvoda, kako je opisano od 4.5.1. do 4.5.3. Od svakog nivoa razrjeđenja po 3 dijela od 1 g ili 1 mL upotrijebe se za inokulaciju 3 epruvete sa 9-10 mL kazein soja bujona. Ukoliko je potrebno, u podlogu se može dodati površinski aktivna supstanca, kao što je polisorb 80 ili inaktivator antimikrobne aktivnosti. Prema tome, ako su pripremljena tri nivoa razblaženja, ukupno je inokulirano 9 epruveta.

Sve epruvete se inkubiraju na 30–35°C, ne duže od 3 dana. Ako je očitavanje rezultata otežano ili nepouzdan zbog prirode proizvoda koji se ispituje, potrebno je provesti presađivanje u isti bujon ili u/na kazein soja agar, inkubirati 1–2 dana na istim temperaturama i koristiti dobijene rezultate. Najvjerovatniji broj prisutnih mikroorganizama u gramu ili mililitru proizvoda se odredi prema Tabeli 2.6.12.-3.

4.6. REZULTATI I TUMAČENJE

Kada se provjerava pogodnost metode membranske filtracije ili metode brojanja na ploči, srednja vrijednost brojanja za svaki ispitivani mikroorganizam ne smije se razlikovati za faktor veći od 2 od vrijednosti kontrole definirane u 4.5.2, dobijene u odsustvu ispitivanog proizvoda.

Kada se provjerava pogodnost metode MPN, preračunata vrijednost inokuluma mora biti unutar 95% limita pouzdanosti u odnosu na kontrolne rezultate.

Ako navedeni kriteriji ne mogu biti zadovoljeni za jedan ili više mikroorganizama ispitanih bilo kojom opisanom metodom, odaberu se metoda i uvjeti ispitivanja koji su najbliži kriterijima korištenim za ispitivanje proizvoda.

5. ISPITIVANJE PROIZVODA

5.1. KOLIČINE KOJE SE KORISTE U ISPITIVANJU

Ako nije drugačije propisano, koristi se 10 g ili 10 mL uzorka koji se ispituje, uzimajući u obzir gore navedene mjere opreza. Za tekućine ili čvrste supstance u formi aerosola uzorkuje se 10 pakovanja. Za transdermalne flastere uzorkuje se 10 flastera. Za oralne disperzibilne filmove, uzorkuje se 10 filmova.

Količina koja se ispituje može se smanjiti za aktivne supstance koje su formulirane pod sljedećim uvjetima: količina po doznoj jedinici (naprimjer tablete, kapsule, injekcije) je manja ili jednaka 1 mg ili je količina po gramu ili mililitru (za preparate koji nisu izraženi u doznim jedinicama) manja od 1 mg. U ovim slučajevima količina koja se ispituje nije manja od količine prisutne u 10 doznih jedinica ili 10 g ili 10 mL proizvoda.

Za materije koje se koriste kao aktivne supstance, gdje je ograničena količina uzorka ili je veličina serije ekstremno mala (npr. manja od 1000 mL ili 1000 g), ispitivana količina može biti 1% serije, ukoliko manja količina nije propisana ili opravdana i odobrena.

Za proizvode gdje je ukupan broj jedinica u seriji manji od 200 (naprimjer uzorci za klinička ispitivanja), veličina uzorka može biti smanjena na 2 jedinice, ili 1 jedinicu, ukoliko je broj jedinica u seriji manji od 100.

Nasumično se odabere uzorak(ci) iz bulka ili raspoloživog pakovanja preparata. Za dobivanje potrebne količine pomiješa se sadržaj dovoljnog broja pakovanja da bi se osigurao uzorak.

5.2. ISPITIVANJE PROIZVODA

5.2.1. Membranska filtracija

U postupku se koristi aparatura za filtriranje koja dozvoljava prenos filtera u/na podlogu. Uzorak se pripremi koristeći postupke koji su opisani u poglavlju 4 i prenese se odgovarajuća količina u svaki od 2 sterilna membranska filtera i odmah profiltrira. Svaki filter se ispire koristeći pogodnu proceduru.

Za određivanje TAMC-a jedan membranski filter se prenese na površinu kazein soja agara. Za određivanje TYMC-a prenese se drugi membranski filter na površinu saburo dektroznog agara. Ploče se inkubiraju sa kazein soja agarom na 30–35°C, 3–5 dana, i ploče sa saburo dektroznim agarom na 20–25°C, 5–7 dana. Izračuna se broj CFU na gram, odnosno mililitar proizvoda.

Kada se ispituju transdermalni flasteri ili oralni disperzibilni filmovi, filtrira se 10% volumena preparata koji je pripremljen prema proceduri opisanoj u 4.5.1, posebno kroz svaki od 2 sterilna membranska filtera. Jedan filter se prenese na kazein soja agar za TAMC, a drugi na saburo dektrozni agar za TYMC.

Tabela 2.6.12.-3. Vrijednosti najvjerojatnijeg broja mikroorganizama

Zabilježene kombinacije broja epruveta koje pokazuju rast mikroorganizama, u svakom skupu			MPN /g	95% limit pouzdanosti
Broj grama ili mililitara proizvoda u epruveti				
0,1	0,01	0,001		
0	0	0	<3	0–9,4
0	0	1	3	0,1–9,5
0	1	0	3	0,1–10
0	1	1	6,1	1,2–17
0	2	0	6,2	1,2–17
0	3	0	9,4	3,5–35
1	0	0	3,6	0,2–17
1	0	1	7,2	1,2–17

Zabilježene kombinacije broja epruveta koje pokazuju rast mikroorganizama, u svakom skupu			MPN /g	95% limit pouzdanosti
Broj grama ili mililitara proizvoda u epruveti				
1	0	2	11	4–35
1	1	0	7,4	1,3–20
1	1	1	11	4–35
1	2	0	11	4–35
1	2	1	15	5–38
1	3	0	16	5–38
2	0	0	9,2	1,5–35
2	0	1	14	4–35
2	0	2	20	5–38
2	1	0	15	4–38
2	1	1	20	5–38
2	1	2	27	9–94
2	2	0	21	5–40
2	2	1	28	9–94
2	2	2	35	9–94
2	3	0	29	9–94
2	3	1	36	9–94
3	0	0	23	5–94
3	0	1	38	9–104
3	0	2	64	16–181
3	1	0	43	9–181
3	1	1	75	17–199
3	1	2	120	30–360
3	1	3	160	30–380
3	2	0	93	18–360
3	2	1	150	30–380
3	2	2	210	30–400
3	2	3	290	90–990
3	3	0	240	40–990
3	3	1	460	90–1980
3	3	2	1100	200–4000
3	3	3	>1100	

5.2.2. Metode brojanja na pločama

5.2.2.1. Metoda izlivanja u ploče

Pripremi se uzorak koristeći odgovarajuće postupke opisane u poglavlju 4. Za svaku podlogu se pripreme najmanje 2 Petrijeve ploče, za svaki nivo razrjeđenja. Ploče sa kazein soja agarom se inkubiraju na 30–35°C, 3–5 dana, i ploče sa saburo dekstroznim agarom na 20–25°C, 5–7 dana. Ploče odgovarajućeg razrjeđenja na kojima je najveći broj kolonija manji od 250 za TAMC i 50 za TYMC se izdvoje. Izračuna se aritmetička sredina dobijenih vrijednosti po hranjivoj podlozi i preračuna se broj CFU na gram, odnosno mililitar proizvoda.

5.2.2.2. Metoda razmazivanja na površinu podloge

Pripremi se uzorak primjenjujući odgovarajuće postupke opisane u poglavlju 4. Za svaku podlogu pripreme se najmanje 2 Petrijeve ploče, za svaki nivo razrjeđenja. Inkubacija i preračunavanje broja CFU provedu se prema proceduri opisanoj u metodi izlivanja u ploče.

5.2.3. Metode najvjerojatnijeg broja MPN

Priprema i razrjeđenje uzorka provedu se primjenjujući odgovarajuće postupke opisane u poglavlju 4. Sve epruvete se inkubiraju na 30–35°C kroz 3 do 5 dana. Ukoliko je potrebno, izvrši se presađivanje odgovarajućom procedurom. Za svaki nivo razrjeđenja zabilježi se broj epruveta sa vidljivim rastom mikroorganizama. Najvjerojatniji broj mikroorganizama po gramu, odnosno mililitru ispitivanog proizvoda odredi se pomoću Tabele 2.6.12.-3.

5.3. TUMAČENJE REZULTATA

Ukupan broj aerobnih mikroorganizama (TAMC) smatra se jednakim broju pronađenih CFU upotrebom kazein soja agara; ukoliko su kolonije gljivica zabilježene na ovoj podlozi, one se računaju kao dio TAMC-a. Ukupan broj kombiniranih kvasnica i plijesni (TYMC) smatra se jednakim broju pronađenih CFU upotrebom saburo dekstroznog agara; ukoliko su kolonije bakterija zabilježene na ovoj podlozi, one se računaju kao dio TYMC-a. Kada se očekuje da će vrijednost TYMC-a preći dozvoljeni limit zbog rasta bakterija, može se koristiti saburo dekstrozni agar sa antibiotikom. Ako se brojanje provodi metodom MPN, izražena vrijednost je TAMC.

Kada je propisan kriterij prihvatljivosti za mikrobiološki kvalitet, on se tumači na slijedeći način:

10¹ CFU: maksimalno prihvatljiv broj = 20;

10² CFU: maksimalno prihvatljiv broj = 200;

10³ CFU: maksimalno prihvatljiv broj = 2 000 i tako dalje.

Preporučene otopine i podloge su opisane u općem poglavlju 2.6.13.

2.6.13. MIKROBIOLOŠKO ISPITIVANJE NESTERILNIH PROIZVODA: TEST ZA SPECIFIČNE MIKROORGANIZME

01/2021:20613

1. UVOD

Testovi koji su ovdje opisani dozvoljavaju određivanje odsustva ili granične vrijednosti specifičnih mikroorganizama koji se mogu detektirati pod opisanim uvjetima.

Testovi su dizajnirani primarno da odrede da li supstance ili preparati odgovaraju ustanovljenim specifikacijama za mikrobiološku kvalitetu. Kada se koriste za navedene svrhe, slijedeći dolje date upute, treba uzeti u obzir broj uzoraka i rezultate tumačiti u skladu sa navedenim zahtjevima.

Alternativne mikrobiološke procedure, uključujući automatske metode, mogu se koristiti pod uvjetom da je osigurana njihova ekvivalentnosti sa metodama Ph. Eur.

2. OPĆE PROCEDURE

Priprema uzoraka provodi se kako je opisano u općem poglavlju 2.6.12.

Ako proizvod koji se ispituje ima antimikrobnu aktivnost, treba je ukloniti ili neutralizirati koliko je moguće na način kako je opisano u poglavlju 2.6.12.

Ako se za pripremu uzorka koriste površinski aktivne supstance, treba ukloniti njihovu toksičnost za mikroorganizme i kompatibilnost sa inaktivatorima koji se koriste, što mora biti prikazano na način kako je opisano u općem poglavlju 2.6.12.

3. PROMOTIVNI RAST I INHIBITORNA SVOJSTVA PODLOGA, POGODNOST TESTA I NEGATIVNE KONTROLE

Mora biti ustanovljena mogućnost testa za detekciju mikroorganizama u prisustvu proizvoda koji se ispituje.

Ako je uvedena izmjena u proceduri ili proizvodu koja može uticati na rezultate testa, pogodnost testa mora biti potvrđena.

3.1. PRIPREMA TESTNIH MIKROORGANIZAMA

Koristiti stabilnu standardiziranu suspenziju testnih sojeva ili ih pripremati kako je dolje navedeno. Održavanje mikroorganizama korištenjem tehnike presijavanja (engl. *seed-lot systems*) treba provesti tako da živi mikroorganizmi koji se koriste za inokuliranje ne smiju imati više od 5 pasaža iz originalnog mikroorganizma.

3.1.1. Aerobni mikroorganizmi

Umnožiti svaki od bakterijskih testnih sojeva odvojeno na kazein soja bujonu ili kazein soja agaru na 30–35°C, 18–24 sata.

Umnožiti testni soj *Candida albicans* odvojeno na saburo dekstroznom agaru ili saburo dekstroznom bujonu na 20–25°C, 2–3 dana.

- *Staphylococcus aureus* kao što su: ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83 ili NBRC13276;
- *Pseudomonas aeruginosa* kao što su: ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 ili NBRC 13275;
- *Escherichia coli* kao što su: ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126 ili NBRC 3972;
- *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium* kao što je ATCC 14028 ili, kao zamjena, *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Abony* kao što su: NBRC 100797, NCTC 6017 ili CIP 80.39;
- *Candida albicans* kao što su: ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72 ili NBRC 1594.

Za pripremu testne suspenzije koristiti pufer otopinu natrij klorid-peptona čiji je pH 7,0 ili otopinu fosfatnog pufera čiji je pH 7,2. Suspenziju čuvati na temperaturi 2–8°C i upotrijebiti u intervalu od 2 do 24 sata.

3.1.2. Klostridija

Koristiti *Clostridium sporogenes* kao naprimjer ATCC 11437 (NBRC 14293, NCIMB 12343, CIP 100651) ili ATCC 19404 (NCTC 532 ili CIP 79.03). Umnožavati klostridija testni soj pod anaerobnim uvjetima u obogaćenom mediju za klostridije na 30–35°C u vremenu 24–48 sati. Kao alternativu za pripremu i razrjeđenje svježih suspenzija vegetativnih stanica *C. sporogenes* koristi se stabilna suspenzija spora za inokuliranje. Stabilna suspenzija spora može biti čuvana na temperaturi 2–8°C kroz validirani period.

3.2. NEGATIVNA KONTROLA

Za provjeru uvjeta testa negativna kontrola se provodi koristeći izabrano sredstvo za razrjeđenje umjesto testnog preparata. Ne smije doći do porasta mikroorganizama. Negativna kontrola se također izvodi kada ispituje proizvod kao što je opisano u poglavlju 4. Kada negativna kontrola ne zadovolji, potrebno je to istražiti.

3.3. PROMOTIVNI RAST I INHIBITORNA SVOJSTVA PODLOGA

Testirati svaku seriju gotovih podloga i svaku seriju podloga pripremljenih iz dehidrirane podloge ili sastojaka. Provjera odgovarajućih svojstava pojedinih podloga opisana je u Tabeli 2.16.13.-1.

Tabela 2.6.13.-1. Promotivni rast, inhibicijske i indikacijske osobine podloga

	Podloga	Svojstva	Testni soj
Test na žučno-tolerantne gram-negativne bakterije	Bujon za obogaćivanje rasta enterobakteria-Mossel	Promotivni rast	<i>E. coli</i> <i>P. aeruginosa</i>
		Inhibicija	<i>S. aureus</i>
	Violetcrveni žučni glukozni agar	Promotivni rast + indikacija	<i>E.coli</i> <i>P. aeruginosa</i>
Test na <i>Escherichia coli</i>	MacConkeyjev bujon	Promotivni rast	<i>E.coli</i>
		Inhibicija	<i>S. aureus</i>
	MacConkeyjev agar	Promotivni rast + indikacija	<i>E.coli</i>
Test na <i>Salmonella</i>	Rappaport Vassiliadis Salmonella bujon za obogaćivanje rasta	Promotivni rast	<i>Salmonella enterica</i> ssp. serotip Typhimurium ili <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> serotip Abony
		Inhibicija	<i>S. aureus</i>
	Ksiloza lizin deoksiholat agar	Promotivni rast + indikacija	<i>Salmonella enterica</i> ssp. serotip Typhimurium ili <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> serotip Abony
		Indikacija	<i>E.coli</i>
Test na <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cetrimid agar	Promotivni rast	<i>P. aeruginosa</i>
		Inhibicija	<i>E. coli</i>
Test na <i>Staphylococcus aureus</i>	Manitol slani agar	Promotivni rast + indikacija	<i>S. aureus</i>
		Inhibicija	<i>E. coli</i>
Test na klostridije	Obogaćena podloga za klostridije	Promotivni rast	<i>C. sporogenes</i>
	Kolumbija agar	Promotivni rast	<i>C. sporogenes</i>
Test za <i>Candida albicans</i>	Saburo glukozni bujon	Promotivni rast	<i>C. albicans</i>
	Saburo glukozni bujon	Promotivni rast + indikacija	<i>C. albicans</i>

Test za promotivni rast, tekuće podloge: inokulirati dio odgovarajuće podloge malim brojem (ne više od 100 CFU) odgovarajućeg mikroorganizma. Inkubirati na specificiranoj temperaturi u najkraćem propisanom vremenskom periodu, kako je navedeno u testu. Pojavljuje se jasno vidljiv rast mikroorganizma, kompariran sa prethodno dobijenim rastom i odobrenom serijom hranjive podloge.

Test za promotivni rast, čvrste podloge: provesti metodu površinskog inokuliranja inokulirajući svaku ploču malim brojem (ne više od 100 CFU) odgovarajućeg mikroorganizma. Inkubirati na specificiranoj temperaturi u najkraćem vremenu predviđenom u testu. Pojavljuje se rast mikroorganizama uporediv sa prethodno dobijenim rastom sa prethodno ispitanom i odobrenom serijom podloge.

Test za inhibitorna svojstva tekućih ili čvrstih podloga: inokulirati odgovarajuću podlogu sa najmanje 100 CFU odgovarajućeg mikroorganizma. Inkubirati na specificiranoj temperaturi u ne kraćem periodu od najduže specificiranog vremenskog perioda inkubacije. Nema rasta testnog mikroorganizma.

Test za indikativna svojstva: provesti test metodom površinskog inokuliranja inokulirajući svaku ploču malim brojem (ne više od 100 CFU) odgovarajućeg mikroorganizma. Inkubirati na specificiranoj temperaturi u vremenskom intervalu specificiranom u testnoj proceduri. Izrasle kolonije treba komparirati po izgledu i reakcijama identifikacije sa prije dobijenim kolonijama na prethodno ispitanom i odobrenom seriji podloge.

3.4. POGODNOST TESTNE METODE

Za svaki proizvod koji se ispituje treba provesti pripremu uzorka kao što je opisano u odgovarajućem paragrafu odjeljka 4. Dodati svaki testni soj uz miješanje u propisanu podlogu za rast. Inokulirati testne sojeve pojedinačno. Koristi se broj mikroorganizama koji odgovara najviše 100 CFU u inokuliranom testnom preparatu.

Provesti test kako je opisano u odgovarajućem paragrafu odjeljka 4 koristeći skraćeno vrijeme inkubiranja kako je propisano. Specifični mikroorganizmi se moraju detektirati sa reakcijama indikacije kako je opisano u poglavlju 4.

Bilo koju antimikrobnu aktivnost proizvoda neophodno je ukloniti prema testnoj proceduri (vidjeti 4.5.3. i opće poglavlje 2.6.12).

Ako se za dati proizvod antimikrobna aktivnost ne može neutralizirati vezano za mikroorganizam koji se testira, može se pretpostaviti da inhibirani mikroorganizam neće biti prisutan u proizvodu.

4. ISPITIVANJE PROIZVODA

4.1. GRAM-NEGATIVNE BAKTERIJE OTPORNE NA ŽUČ

4.1.1. Priprema uzorka i predinkubacija

Pripremiti uzorak koristeći razrjeđenje 1 u 10, ali ne manje od 1 g proizvoda koji se ispituje kako je opisano u općem poglavlju 2.6.12, koristeći kazein soja bujon kao otapalo izbora, izmiješati i inkubirati na 20–25°C u vremenu dovoljnom za oživljavanje bakterija, ali ne i dovoljnom za njihovo umnožavanje (obično 2 sata, ali ne više od 5 sati).

4.1.2. Test za odsustvo

Ukoliko drugačije nije opisano, koristiti volumen koji odgovara 1 g proizvoda, pripremljenom kako je opisano u 4.1.1, inokulirajući bujon za obogaćenje rasta enterobakterija Mossel. Inkubirati na 30–35°C u vremenu 24–48 sati. Presijati na violetcrveni žučni agar sa glukozom. Inkubirati na 30–35°C u vremenu 24–48 sati.

Proizvod odgovara ispitivanju ako nije prisutan rast kolonija.

4.1.3. Kvantitativni test

4.1.3.1. Selekcija i presijavanje. Inokulirati odgovarajuću količinu bujona za obogaćenje rasta enterobakterija po Mosselu preparatom kako je opisano pod 4.1.1. i /ili prirediti razrjeđenja da sadrže svaki posebno 0,1 g; 0,01 g i 0,001 g (ili 0,1 mL; 0,01 mL i 0,001 mL) proizvoda koji se ispituje. Inkubirati na 30–35°C u vremenu 24–48 sati. Presijati svako od razrjeđenja na ploče sa violetcrvenim žučnim agarom sa glukozom. Inkubirati na 30–35°C kroz 18–24 sata.

4.1.3.2. Tumačenje. Porast kolonija tumači se kao pozitivan rezultat. Zabilježiti najmanju količinu proizvoda koji daje pozitivan rezultat i najveću količinu koja daje negativan rezultat. Utvrđivanje najvjerojatnijeg broja bakterija provodi se prema Tabeli 2.6.13.-2.

Tabela 2.6.13.-2. Tumačenje rezultata

Rezultati za svaku količinu proizvoda			Najvjerojatniji broj bakterija po gramu ili mililitru proizvoda
0,1 g ili 0,1 mL	0,01 g ili 0,01 mL	0,001 g ili 0,001 mL	
+	+	+	$> 10^3$
+	+	-	$< 10^3$ i $> 10^2$
+	-	-	$< 10^2$ i > 10
-	-	-	< 10



4.2. *ESCHERICHIA COLI*

4.2.1. Priprema uzorka i predinkubacija

Pripremiti uzorak koristeći razrjeđenje 1 u 10, ali ne manje od 1 g proizvoda koji se ispituje kako je opisano u općem poglavlju 2.6.12, i uzeti 10 mL ili količinu koja odgovara 1 g ili 1 mL za inokulaciju odgovarajuće količine (određene kako je opisano pod 3–4) kazein soja bujona, izmiješati i inkubirati na 30–35°C kroz 18–24 sata.

Kod ispitivanja oralnih disperzibilnih filmova, kroz sterilni membranski filter filtrirati volumen uzorka koji odgovara jednom filmu preparata opisanog pod 4-5-1 u općem poglavlju 2.6.12 i staviti u 100 mL kazein soja bujona. Inkubirati na 30–35°C kroz 18–24 sata.

4.2.2. Selekcija i presijavanje

Promućkati kontejner, prebaciti 1 mL kazein soja bujona u 100 mL MacConkeyjevog bujona i inkubirati na 42–44°C kroz 24–48 sati. Presijati na ploče sa MacConkeyjevim agarom i inkubirati na 30–35°C kroz 18–72 sata.

4.2.3. Tumačenje

Rast kolonija ukazuje na mogućnost prisustva *E. coli*. To treba potvrditi testom identifikacije. Proizvod odgovara ispitivanju ako kolonije nisu prisutne ili ako su testovi identifikacije negativni.

4.3. *SALMONELLA*

4.3.1. Priprema uzorka i predinkubacija

Pripremiti uzorak koji se ispituje na način kako je opisano u općem poglavlju 2.6.12. i koristiti količinu koja odgovara najmanje 10 g ili 10 mL za inokuliranje odgovarajuće količine (određene kako je opisano pod 3–4) kazein soja bujona, promiješati i inkubirati na 30–35°C kroz 18–24 sata.

4.3.2. Selekcija i presijavanje

Prebaciti 0,1 mL kazein soja bujona u 10 mL Rappaport Vassiliadis *Salmonella* bujona za obogaćivanje rasta i inkubirati na 30–35°C kroz 18–24 sata. Presijati na ploče sa ksiloza lizin deoksiholat agar podlogom. Inkubirati na 30–35°C kroz 18–48 sati.

4.3.3. Tumačenje

Na moguće prisustvo *Salmonellae* ukazuje rast dobro razvijenih crvenih kolonija sa ili bez crnog centra. To se potvrđuje testom identifikacije. Proizvod odgovara ispitivanju ako kolonije opisanih vrsta nisu prisutne ili ako je potvrdni test identifikacije negativan.

4.4. *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

4.4.1. Priprema uzorka i predinkubacija

Pripremiti uzorak koristeći razrjeđenje 1 u 10 najmanje 1 g proizvoda koji se ispituje kako je opisano u općem poglavlju 2.6.12. i koristiti 10 mL ili količinu koja odgovara 1 g ili 1 mL za inokulaciju odgovarajuće količine (određivanje kao što je opisano pod 3–4) kazein soja bujona i pomiješati.

Kada se ispituju transdermalni flasteri ili oralni disperzibilni filmovi, filtrirati volumen uzorka koji odgovara jednom flasteru ili jednom filmu preparata opisanog pod 4.5.1. u općem poglavlju 2.6.12, kroz sterilan membranski filter i prebaciti ga u 100 mL kazein soja bujona. Inkubirati na 30–35°C kroz 18–24 sata.

4.4.2. Selekcija i presijavanje

Presijati na ploče sa ceftrimid agar podlogom i inkubirati na 30–35°C kroz 18–72 sata.

4.4.3. Tumačenje

Porast kolonija ukazuje na mogućnost prisustva *P. aeruginosa*. To treba potvrditi identifikacijskim testom. Proizvod odgovara ispitivanju ako kolonije nisu prisutne ili ako su potvrđni testovi identifikacije negativni.

4.5. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

4.5.1. Priprema uzorka i predinkubacija

Pripremiti uzorak koristeći razrjeđenje 1 u 10 najmanje 1 g proizvoda koji će se ispitivati na način opisan u općem poglavlju 2.6.12. i uzeti 10 mL ili količinu koja odgovara 1 g ili 1 mL za inokuliranje odgovarajuće količine (određivanje kako je opisano pod 3–4) kazein soja bujona i izmiješati.

Kada se ispituju transdermalni flasteri ili oralni disperzibilni filmovi, filtrirati volumen uzorka koji odgovara jednom flasteru ili jednom filmu preparata opisanog pod 4.5.1. u općem poglavlju 2.6.12. kroz sterilan membranski filter i prebaciti ga u 100 mL kazein soja bujona. Inkubirati na 30–35°C kroz 18–24 sata.

4.5.2. Selekcija i presijavanje

Presijati na ploču sa manitol slanom agar podlogom i inkubirati na 30–35°C kroz 18–72 sata.

4.5.3. Tumačenje

Na moguće prisustvo *S. aureus* ukazuje rast žutih/bijelih kolonija okruženih žutom zonom. Ovo se potvrđuje testom identifikacije. Proizvod odgovara ispitivanju ako kolonije opisanih vrsta nisu prisutne ili ako su potvrđni testovi identifikacije negativni.

4.6. *CLOSTRIDIA*

4.6.1. Priprema uzorka i zagrijavanje

Pripremiti uzorak koristeći razrjeđenje 1 na 10 (ukupni volumen minimum 20 mL) ne manje od 2 g ili 2 mL proizvoda koji se ispituje na način kako je opisano u općem poglavlju 2.6.12. Podijeliti uzorak na 2 dijela od najmanje 10 mL. Jedan dio zagrijavati na 80 °C kroz 10 minuta i naglo ohladiti. Drugi dio ne treba zagrijavati.

4.6.2. Selekcija i presijavanje

Uzeti 10 mL ili količinu koja odgovara 1 g ili 1 mL proizvoda koji se ispituje od oba dijela za inokuliranje odgovarajuće količine (određivane prema opisanom pod 3–4) obogaćene podloge za rast klostridija. Inkubirati pod anaerobnim uvjetima na 30–35°C kroz 48 sati. Nakon inkubacije izvršiti presijavanje iz svakog kontejnera na Kolumbija agar i inkubirati pod anaerobnim uvjetima na 30–35°C kroz 48–72 sata.

4.6.3. Tumačenje

Pojava rasta štapića pod anaerobnim uvjetima (sa ili bez endospora) koji daju negativnu reakciju katalaze ukazuje na prisustvo klostridija. Ovo se potvrđuje testom identifikacije.

Proizvod odgovara ispitivanju ako kolonije opisanih vrsta nisu prisutne ili ako su potvrđni testovi identifikacije negativni.

4.7. *CANDIDA ALBICANS*

4.7.1. Priprema uzorka i predinkubacija

Pripremiti uzorak koji se ispituje na način kako je opisano u općem poglavlju 2.6.12. i uzeti 10 mL ili količinu koja odgovara najmanje 1 g ili 1 mL za inokuliranje 100 mL saburo glukoznog bujona i pomiješati. Inkubirati na 30–35°C kroz 3 do 5 dana.

4.7.2. Selekcija i presijavanje

Presijati na ploču sa saburo glukoznom agar podlogom i inkubirati na 30–35°C kroz 24–48 sati.

4.7.3. Tumačenje

Rast bijelih kolonija ukazuje na moguće prisustvo *C. albicans*. Ovo se potvrđuje testom identifikacije.

Proizvod odgovara ispitivanju ako takve kolonije nisu prisutne ili ako su potvrđni testovi identifikacije negativni.

5. PREPORUČENE OTOPINE I PODLOGE

Sljedeće otopine i hranjive podloge pokazale su se zadovoljavajućim za namjenu za koju su propisane u ispitivanju mikrobiološke čistoće kako je opisano u Farmakopeji. Mogu se koristiti i druge podloge pod uvjetom da se njihova pogodnost može dokazati.

Stock otopina pufera. 34 g kalij dihidrogen fosfata stavi se u odmjernu tikvicu volumena 1000 mL, otopi u 500 mL pročišćene vode, koristeći natrij hidroksid podesi se pH vrijednost na $7,2 \pm 0,2$, a zatim se razrijedi do 1000 mL pročišćenom vodom i pomiješa. Razdijeli se u kontejnere i sterilizira. Čuva se na 2–8°C.

Otopina fosfatnog pufera pH 7,2. Pripremi se smjesa stock otopine i pročišćene vode (1:800 V/V) i sterilizira.

Puferirana otopina natrij klorid-peptona pH 7,0

Kalij dihidrogen fosfat	3,6 g
Dinatrij hidrogen fosfat dihidrat	7,2 g ekvivalentno 0,067M fosfatu
Natrij klorid	4,3 g
Pepton (mesni ili kazeinski)	1,0 g
Pročišćena voda	1000 mL

Sterilizirati u autoklavu po validiranom postupku.

Kazein soja bujon

Pankreasni hidrolizat kazeina	17,0 g
Papainski hidrolizat soje	3,0 g
Natrij klorid	5,0 g
Dikalij hidrogen fosfat	2,5 g
Glukoza monohidrat	2,5 g
Pročišćena voda	1000 mL

Podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije na 25°C bude $7,3 \pm 0,2$.

Sterilizirati u autoklavu po validiranom postupku.

Kazein soja agar

Pankreasni hidrolizat kazeina	15,0 g
Papainski hidrolizat soje	5,0 g
Natrij klorid	5,0 g
Agar	15,0 g
Pročišćena voda	1000 mL

Podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije na 25°C bude $7,3 \pm 0,2$.

Sterilizirati u autoklavu po validiranom postupku.

Saburo dekstrozni agar (*Sabouraud-dextrose agar*)

Dekstroza	40,0 g
Mješavina pankreasnog hidrolizata kazeina i pepsin hidrolizata životinjskog tkiva (1:1)	10,0 g
Agar	15,0 g
Pročišćena voda	1000 mL

Podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije na 25°C bude $5,6 \pm 0,2$.

Sterilizirati u autoklavu po validiranom postupku.

Krompirov dekstrozni agar

Krompirov ekstrakt	200 g
Dekstroza	20,0 g
Agar	15,0 g
Pročišćena voda	1000 mL

Podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije bude $5,6 \pm 0,2$ na temperaturi 25°C.

Sterilizirati u autoklavu po validiranom postupku.

Saburo glukozni bujon

Dekstroza	20,0 g
Mješavina pankreasnog hidrolizata kazeina i pepsin hidrolizata životinjskog tkiva (1:1)	10,0 g
Pročišćena voda	1000 mL

Podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije na 25°C bude $5,6 \pm 0,2$.

Sterilizirati u autoklavu po validiranom postupku.

Bujon za obogaćenje rasta enterobakterija po Mosselu

Pankreasni hidrolizat želatina	10,0 g
Glukoza monohidrat	5,0 g
Goveđa žuč, bezvodna	20,0 g
Kalij dihidrogen fosfat	2,0 g
Dinatrij hidrogen fosfat dihidrat	8,0 g
Brilijant zeleno	15 mg
Pročišćena voda	1000 mL



Podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije bude $7,2 \pm 0,2$ na temperaturi 25°C . Zagrijati na 100°C kroz 30 minuta i odmah ohladiti.

Violetcrveni žučni agar sa glukozom

Ekstrakt kvasca	3,0 g
Pankreasni hidrolizat želatina	7,0 g
Žučne soli	1,5 g
Natrij klorid	5,0 g
Glukoza monohidrat	10,0 g
Agar	15,0 g
Neutralno crveno	30 mg
Kristalviolet	2 mg
Pročišćena voda	1000 mL

Podesiti pH vrijednost podloge tako da nakon grijanja bude $7,4 \pm 0,2$ na 25°C . Zagrijati do ključanja, ne zagrijavati u autoklavu.

MacConkeyjev bujon

Pankreasni hidrolizat želatina	20,0 g
Laktoza monohidrat	10,0 g
Goveđa žuč, bezvodna	5,0 g
Bromkrezol plavo	10 mg
Pročišćena voda	1000 mL

Podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije bude $7,3 \pm 0,2$ na 25°C .

Sterilizirati u autoklavu po validiranom postupku.

MacConkeyjev agar

Pankreasni hidrolizat želatina	17,0 g
Pepton (mesni i kazeinski)	3,0 g
Laktoza monohidrat	10,0 g
Natrij klorid	5,0 g
Žučne soli	1,5 g
Agar	13,5g
Neutralno crveno	30,0 mg
Kristalviolet	1,0 mg
Pročišćena voda	1000 mL

Podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije bude $7,1 \pm 0,2$ na 25°C .

Zagrijavati do ključanja kroz 1 minutu uz stalno miješanje i sterilizirati u autoklavu validiranim postupkom.

Rappaport Vassiliadis Salmonella bujon za obogaćenje rasta

Sojin pepton	4,5g
Magnezij klorid heksahidrat	29,0 g
Natrij klorid	8,0 g
Dikalij fosfat	0,4 g
Kalij dihidrogen fosfat	0,6 g
Malahit zeleno	0,036 g
Pročišćena voda	1000 mL

Otopiti uz blago zagrijavanje. Sterilizirati u autoklavu koristeći validirani postupak na temperaturi ne višoj od 115°C . Podesiti pH vrijednost tako da nakon zagrijavanja i sterilizacije bude $5,2 \pm 0,2$ na temperaturi 25°C .

Ksiloza lizin deoksiholat agar

Ksiloza	3,5 g
l-Lizin	5,0 g
Laktoza monohidrat	7,5 g
Saharoza	7,5 g
Natrij klorid	5,0 g
Ekstrakt kvasca	3,0 g
Fenol crveno	80 mg
Agar	13,5 g
Natrij deoksiholat	2,5 g
Natrij tiosulfat	6,8 g
Željezo amonij citrat	0,8 g
Pročišćena voda	1000 mL

Podesiti pH vrijednost tako da nakon zagrijavanja bude $7,4 \pm 0,2$ na 25°C . Zagrijati do ključanja i ohladiti na 50°C i razliti u Petrijeve posude. Ne zagrijavati u autoklavu.

Cetrimid agar

Pankreasni hidrolizat želatina	20,0 g
Magnezij klorid	1,4 g
Dikalijev sulfat	10,0 g
Cetrimid	0,3 g
Agar	13,6 g
Pročišćena voda	1000 mL
Glicerol	10,0 mL

Zagrijati do ključanja 1 minutu uz miješanje. Podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije bude $7,2 \pm 0,2$ na 25°C . Sterilizirati u autoklavu uz validiran postupak.

Manitol slani agar

Pankreasni hidrolizat kazeina	5,0 g
Pepsin hidrolizat životinjskog tkiva	5,0 g
Goveđi ekstrakt	1,0 g
D-Manitol	10,0 g
Natrij klorid	75,0 g
Agar	15,0 g
Fenol crveno	0,025 g
Pročišćena voda	1000 mL

Pripremljenu podlogu lagano zagrijati do ključanja 1 minutu uz stalno miješanje. Podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije bude $7,4 \pm 0,2$ pri 25°C . Sterilizirati u autoklavu uz validirani postupak



Obogaćena podloga za klostridije

Mesni ekstrakt	10,0 g
Pepton	10,0 g
Ekstrakt kvasca	3,0 g
Topivi škrob	1,0 g
Glukoza monohidrat	5,0 g
Cistein hidroklorid	0,5 g
Natrij klorid	5,0 g
Natrij acetat	3,0 g
Agar	0,5 g
Pročišćena voda	1000 mL

Hidrirati agar, otopiti zagrijavanjem do ključanja uz stalno miješanje. Ako je potrebno, podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije bude oko $6,8 \pm 0,2$ pri 25°C. Sterilizirati u autoklavu uz validirani postupak.

Kolumbija agar

Pankreasni hidrolizat kazeina	10,0 g
Pepsin mesni hidrolizat	5,0 g
Pankreasni hidrolizat srca	3,0 g
Ekstrakt kvasca	5,0 g
Kukuruzni škrob	1,0 g
Natrij klorid	5,0 g
Agar, prema stupnju želiranja	10,0 –15,0 g
Pročišćena voda	1000 mL

Hidrirati agar, otopiti zagrijavanjem do ključanja uz stalno miješanje. Ako je potrebno, podesiti pH vrijednost tako da nakon sterilizacije bude $7,3 \pm 0,2$ pri 25°C. Sterilizirati u autoklavu uz validirani postupak. Ohladiti na 45–50°C; dodati, gdje je neophodno, gentamicin sulfat u količini koja odgovara 20 mg gentamicin baze i razliti u Petrijeve posude.

2.6.14. BAKTERIJSKI ENDOTOKSINI

01/2018:20614

Test za bakterijske endotoksine koristi se za detekciju ili kvantifikaciju endotoksina gram-negativnih bakterija koristeći lizat amebocita potkovičastog račića (*Limulus polyphemus* ili *Tachypleus tridentatus*). Postoje 3 tehnike za ovaj test: gel-klot tehnika, koja se bazira na stvaranju gela; turbidimetrijska tehnika, bazira se na stvaranju zamućenja nakon cijepanja endogenog supstrata; i kromogena tehnika, bazirana na stvaranju boje nakon cijepanja sintetičkog peptidnog kromogenog kompleksa.

Sljedećih 6 metoda je opisano u ovom poglavlju:

Metoda A. Gel-klot metoda: limit test;

Metoda B. Gel-klot metoda: kvantitativni test;

Metoda C. Turbidimetrijska kinetička metoda;

Metoda D. Kromogena kinetička metoda;

Metoda E. Kromogena metoda završne tačke (*end-point*);

Metoda F. Turbidimetrijska metoda završene tačke (*end-point*).

Test se provodi po bilo kojoj od navedenih 6 metoda. U slučaju sumnje ili spora, konačna odluka se donosi prema metodi A, ako drugačije nije navedeno u monografiji.

Test se provodi na način da se izbjegne onečišćenje endotoksinom.

1. OPREMA

Depirogenizacija svog stakla i druge termostabilne opreme provodi se u pećnici sa vrućim zrakom uz korištenje validiranog procesa. Najkraće vrijeme i temperatura koji se obično koriste su 30 minuta na 250°C. Ako se koristi pribor od plastike, kao što su mikrotitar ploče i nastavci za automatsku pipetu, on treba biti bez detektiranih endotoksina i da nema interferirajući efekt.

Napomena: u ovom poglavlju termin „tube“ uključuje sve tipove kontejnera, naprimjer jamice mikrotitar ploče (engl. microtitre plate wells).

2. REAGENSI, TESTNE OTOPINE

(1) Lizat amebocita

Lizat amebocita je liofilizirani proizvod dobijen iz lizata amebocita potkovičastog račića (*Limulus polyphemus* ili *Tachypleus tridentatus*). Pod reagensom se podrazumijeva samo proizvod izrađen u skladu s propisima nadležnog tijela.

NAPOMENA: lizat amebocita, osim s endotoksinima, reagira i s nekim β-glukanima. Preparati lizata amebocita koji ne reagiraju s glukanim su dostupni; oni se dobivaju uklanjanjem G faktora iz lizata amebocita, koji reagira s glukanim, ili inhibicijom G faktora iz lizata amebocita. Ovi se preparati mogu koristiti za ispitivanje endotoksina u prisustvu glukana.

(2) Otopina lizata

Otopiti lizat amebocita u vodi za BET ili u puferu, prema preporuci proizvođača lizata, uz blago miješanje. Čuvati rekonstituirani lizat u frižideru ili zamrzivaču, prema navodima proizvođača.

(3) Voda za BET (voda za test na bakterijske endotoksine)

Voda za injekcije R ili voda drugih proizvođača koja ne daje reakciju s lizatom korištenim kod granice detekcije za reagens.

3. PRIPREMA STOCKOTOPINE STANDARDA ENDOTOKSINA

Stock otopina standarda endotoksina priprema se od referentnog standarda endotoksina koji je kalibriran prema Internacionalnom standardu, naprimjer *standard endotoksina BRP*.

Endotoksin se izražava u internacionalnim jedinicama (IU). Ekvivalentnost u IU Internacionalnog standarda utvrđuje Svjetska zdravstvena organizacija.

NAPOMENA: jedna internacionalna jedinica (IU) endotoksina jednaka je jednoj endotoksinskoj jedinici (E.U.).

Slijediti specifikaciju koja je data na listiću u svakom pakovanju i naznačena na uputi za pripremu i čuvanje stock otopine standarda endotoksina.

4. PRIPREMA STANDARDNE OTOPINE ENDOTOKSINA

Nakon snažnog miješanja *stock* otopine standarda endotoksina, pripremiti odgovarajuću seriju razrjeđenja navedene otopine uz korištenje vode za BET.

5. PRIPREMA ISPITIVANIH OTOPINA

Pripremiti ispitivane otopine otapanjem ili razrjeđivanjem aktivnih supstanci ili medicinskih proizvoda korištenjem vode za BET. Neke supstance ili preparati mogu se otopiti ili razrijediti u drugim vodenim otopinama.

Ako je potrebno, podesiti pH vrijednost ispitivane otopine (ili daljim razrjeđivanjem) tako da pH vrijednost mješavine lizata i ispitivane otopine bude unutar specificiranog raspona pH vrijednosti koje je naveo proizvođač lizata (obično 6,0–8,0). Vrijednost pH može se podešavati uz korištenje kiselina, baza ili odgovarajućeg pufera, prema preporuci proizvođača lizata. Kiseline ili baze se mogu pripremiti iz koncentrata ili čvrstih supstanci sa vodom za BET u kontejnerima bez detektiranih endotoksina. Pufferi moraju biti validirani na odsutnost detektiranih endotoksina i interferirajućih faktora.

6. ODREĐIVANJE MAKSIMALNO VALIDNOG RAZRJEĐENJA

Maksimalno validno razrjeđenje (MVD) je najveće dozvoljeno razrjeđenje uzorka u kojem se može odrediti endotoksinski limit, koji se ispituje u testu određeno endotoksinskim limitom. Odrediti MVD pomoću sljedeće formule:

$$\text{MVD} = \frac{\text{endotoksinski limit} \times \text{koncentracija testne otopine}}{\lambda}$$

Endotoksinski limit: endotoksinski limit za aktivne supstance koje se koriste parenteralno definiran je na bazi doze i jednak je:

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

K = prag prihvatljivosti pirogene doze endotoksina po kilogramu tjelesne mase;

M = maksimalna preporučena bolus doza proizvoda po kilogramu tjelesne mase.

Kada se proizvod učestalo injektira ili kontinuirano primjenjuje infuzijom, M je maksimalna ukupna doza primijenjena u roku jednog sata.

Endotoksinski limit za aktivne supstance koje se koriste parenteralno je specificiran u jedinicama kao IU/mL, IU/mg, IU/jedinica biološke aktivnosti, naprimjer, u monografijama.

Koncentracija ispitivane otopine:

- u mg/mL ako je endotoksinski limit specificiran preko mase (IU/mg);
- u Units/mL ako je endotoksinski limit specificiran preko jedinica biološke aktivnosti (IU/Unit);
- u mL/mL ako je endotoksinski limit specificiran preko volumena (IU/mL).

λ = naznačena osjetljivost lizata u gel-klot tehnici (IU/mL) ili najniža koncentracija koja se koristi za standardnu krivu u turbidimetrijskoj ili kromogenoj tehnici.

7. GEL-KLOT TEHNIKA (METODE A I B)

Gel-klot tehnika koristi se za detekciju ili kvantifikaciju endotoksina i bazira se na zgrušavanju lizata u prisustvu endotoksina. Minimalna koncentracija endotoksina koja izaziva zgrušavanje lizata pod standardnim uvjetima je deklarirana osjetljivosti lizata. Da bi bila osigurana preciznost i validnost testa, treba potvrditi naznačenu osjetljivost lizata i izvršiti test za faktore interferencije kako je opisano pod 1. Pripremno ispitivanje.

1. PRIPREMNO ISPITIVANJE

(i) Potvrda naznačene osjetljivosti lizata

Potvrditi u 4 ponavljanja naznačenu osjetljivost λ , izraženu u IU/mL, otopine lizata prije nego što se koristi u testu.

Potvrdu osjetljivosti lizata izvršiti kada se koristi nova serija lizata ili kada je došlo do bilo kakve promjene uvjeta odvijanja testa koji bi mogli uticati na rezultate testa.

Pripremiti najmanje 4 koncentracije otopine standarda koje odgovaraju 2λ , λ , $0,5\lambda$ i $0,25\lambda$ razrjeđivanjem stock otopine standarda endotoksina vodom za BET.

Pomiješati volumen otopine lizata sa jednakim volumenom jedne od otopina standarda (kao alikvot uzeti 0,1 mL) u svakoj epruveti. Kad se za ispitivanje koriste pojedinačne bočice ili ampule s liofiliziranim lizatom, otopine standarda dodati direktno u bočicu ili ampulu. Inkubirati reakcionu smjesu tokom konstantnog perioda koju preporučuje proizvođač lizata (uobičajeno $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ za 60 ± 2 minute) izbjegavajući vibracije. Test kojim se provjerava integritet gela: za epruvete, svaku epruvetu uzeti izravno iz inkubatora i zaokrenuti jednim laganim pokretom za oko 180° . Ako se formirani gel zadrži nakon zaokretanja, zabilježiti pozitivan rezultat. Rezultat je negativan ako se nije formirao čvrsti gel.

Test se smatra validnim kad najniža koncentracija standardne otopine daje negativan rezultat u svim ponovljenim testovima.

Završna tačka (engl. *end-point*) je najniža koncentracija u seriji opadajućih koncentracija standarda endotoksina koja zgrušava lizat. Odrediti geometrijsku sredinu koncentracije završne tačke izračunavanjem srednje vrijednosti logaritama koncentracija završnih tačaka 4 serije razrjeđenja te izračunati antilogaritama ove vrijednosti, kako je navedeno sljedećim izrazom:

Geometrijska sredina end-point koncentracije = antilog $\frac{\sum e}{f}$

$\sum e$ = zbir logaritama \log_{10} end-point koncentracija serije razrjeđenja koja se koristila;

f = broj ponavljanja.

Geometrijska sredina end-point koncentracije je mjerenje osjetljivosti otopine lizata (IU/mL). Ako nije niža od $0,5\lambda$ ni viša od 2λ , naznačena osjetljivost lizata je potvrđena i može se koristiti u testovima koji se provode sa tim lizatom.

(ii) Test za faktore interferencije

Pripremiti otopine A, B, C i D kako je prikazano u Tabeli 2.6.14.-1. i koristiti testnu otopinu razrjeđenja manjeg od MVD, koja ne sadrži nikakve detektibilne endotoksine, provesti proceduru kako je opisano pod 1. Pripremno ispitivanje, (i) Potvrda naznačene osjetljivosti lizata.

Tabela 2.6.14.-1.

Otopina	Koncentracija endotoksina/ otopina u koju je dodan endotoksin	Otapalo	Faktor razrjeđenja	Koncentracija endotoksina	Broj ponavljanja
A	nema/testna otopina	-	-	-	4
B	2λ /testna otopina	testna otopina	1	2λ	4
			2	1λ	4
			4	$0,5\lambda$	4
			8	$0,25\lambda$	4
C	2λ /voda za BET	voda za BET	1	2λ	2
			2	1λ	2
			4	$0,5\lambda$	2
			8	$0,25\lambda$	2
D	nema/voda za BET	-	-	-	2

Otopina A = otopina preparata koji se ispituje bez detektibilnih endotoksina
 Otopina B = ispitivanje interferencije
 Otopina C = kontrola naznačene osjetljivosti lizata
 Otopina D = negativna kontrola (voda za BET)

Geometrijska sredina *end-point* koncentracija otopina B i C određuje se koristeći izraz opisan pod 1. Pripremno ispitivanje, (i) Potvrda naznačene osjetljivosti lizata.

Test za faktore interferencije mora se ponoviti prilikom bilo kakve promjene uvjeta provođenja testa kada postoji vjerojatnost da bi oni mogli imati uticaj na rezultate testa.

Test se smatra validnim kada nijedna paralela otopina A i D ne pokazuje reakciju i rezultat otopine C potvrđuje naznačenu osjetljivost lizata.

Ako osjetljivost lizata određena otopinom B nije manja od $0,5\lambda$ i nije veća od 2λ , testna otopina ne sadrži faktore interferencije pod uvjetima provedenog testa. Inače, testna otopina sadrži faktore interferencije.

Ako preparat koji se ispituje interferira sa testom kod razrjeđenja manjeg od MVD, ponoviti test za faktore interferencije koristeći veće razrjeđenje, ne prelazeći MVD. Korištenje lizata veće osjetljivosti uz veće razrjeđenje preparata koji se ispituje može pomoći za uklanjanje faktora interferencije.

Interferencija se može otkloniti odgovarajućim validiranim tretmanom, kao što je filtracija, neutralizacija, dijaliza ili tretman zagrijavanja. Da bi se utvrdilo da li odabrani tretman efikasno uklanja faktore interferencije bez gubitka endotoksina, ponoviti test za faktore interferencije koristeći preparat koji se ispituje kome je dodan standard endotoksina, a koji je potom podvrgnut izabranom tretmanu.

2. LIMIT TEST (METODA A)

(i) Procedura

Pripremiti otopine A, B, C i D kao što je navedeno u Tabeli 2.6.14.-2. i provesti test na otopinama slijedeći proceduru opisanu pod 1. Pripremno ispitivanje, (i) Potvrda naznačene osjetljivosti lizata.

Tabela 2.6.14.-2.

Otopina	Koncentracija endotoksina/otopina u koju je dodan endotoksin	Broj ponavljanja
A	nema/razrijeđena testna otopina	2
B	2λ /razrijeđena testna otopina	2
C	2λ /voda za BET	2
D	nema/voda za BET	2

Pripreme se otopina A i otopina B (pozitivna kontrola proizvoda) koristeći razrjeđenje ne veće od MVD, a dalji postupak je opisan u 1. Pripremno ispitivanje, (ii) Test za faktore interferencije. Otopine B i C (pozitivne kontrole) sadrže standard endotoksina u koncentraciji koja odgovara dvostrukoj od naznačene osjetljivosti lizata. Otopina D (negativna kontrola) sadrži samo vodu za BET.

(ii) Interpretacija

Test se smatra validnim kada obje paralele otopine B i C daju pozitivan rezultat, a njihove otopine D negativne.

Kad se dobije negativan rezultat za obje paralele otopine A, ispitivani preparat odgovara zahtjevima testa.

Kad se dobije pozitivan rezultat za obje paralele otopine A, ispitivani preparat ne odgovara zahtjevima testa.

Kad se za otopinu A dobije pozitivan rezultat u jednoj paraleli, a negativan u drugoj, ponoviti test. Ispitivani preparat odgovara zahtjevima testa ako se u ponovljenom testu dobije negativan rezultat za obje paralele otopine A. Preparat ne odgovara zahtjevima testa ako se dobije pozitivan rezultat za jednu ili obje paralelne otopine A.

Međutim, ako preparat ne odgovara zahtjevima testa u razrjeđenju manjem od MVD-a, test se može ponoviti koristeći veće razrjeđenje koje ne prelazi MVD.

3. KVANTITATIVNI TEST (METODA B)

(i) Procedura

Test kvantificira bakterijske endotoksine u testnoj otopini titracijom do *end-point* tačke. Pripremiti otopine A, B, C i D kako je prikazano u Tabeli 2.6.14.-3. i testirati otopine prema proceduri opisanoj pod 1. Pripremno ispitivanje, (i) Potvrda naznačene osjetljivosti lizata.

(ii) Izračunavanje i interpretacija

Test se smatra validnim ukoliko su sljedeća 3 uvjeta zadovoljena:

- (a) obje paralele otopine D (negativna kontrola) su negativne;
- (b) obje paralele otopine B (pozitivna kontrola proizvoda) su pozitivne;
- (c) geometrijska sredina *end-point* koncentracije otopine C je u rasponu od $0,5\lambda$ do 2λ .

Koncentracija endotoksina u testnoj otopini je geometrijska sredina *end-point* koncentracije ponavljanja. Ako se test provodi s razrijeđenom testnom otopinom, izračunati koncentraciju endotoksina u originalnoj otopini množenjem rezultata sa faktorom razrjeđenja.

Ako niti jedno razrjeđenje testne otopine nije pozitivno u testu validnosti, zabilježiti koncentraciju endotoksina kao manju od λ (ili, ako se testira razrijeđeni uzorak, zabilježiti kao manju od najnižeg faktora razrjeđenja uzorka $\times \lambda$). Ako su sva razrjeđenja pozitivna, koncentracija endotoksina se zabilježi kao jednaka ili veća od najvećeg faktora razrjeđenja pomnoženog sa λ (naprimjer, u Tabeli 2.6.14.-3. početni faktor razrjeđenja $\times 8 \times \lambda$).

Ispitivani preparat odgovara zahtjevima testa ako je koncentracija endotoksina u obje paralele manja od one specificirane u monografiji.

Tabela 2.6.14.-3.

Otopina	Koncentracija endotoksina/ otopina kojoj je dodan endotoksin	Otapalo	Faktor razrjeđenja	Koncentracija endotoksina	Broj ponavljanja
A	nema/testna otopina	voda za BET	1	–	2
			2	–	2
			4	–	2
			8	–	2
B	2λ /testna otopina		1	2λ	2
C	2λ /voda za BET	voda za BET	1	2λ	2
			2	1λ	2
			4	$0,5\lambda$	2
			8	$0,25\lambda$	2
D	nema/voda za BET	–	–	–	2

Otopina A = testna otopina pri razrjeđivanju, ne prelazi MVD kojim je provedeno ispitivanje interferirajućih faktora. Daljnje razrjeđenje testne otopine ne smije prelaziti MVD. Za izradu serija razrjeđenja od 4 epruvete koje sadrže testnu otopinu u koncentracijama 1, 1/2, 1/4 i 1/8 u odnosu na razrjeđenje korišteno u ispitivanju na interferirajuće faktore koristi se voda za BET. Ostala razrjeđenja do MVD-a mogu se koristiti kako je pogodno.
 Otopina B = otopina A koja sadrži standard endotoksina u koncentraciji od 2λ (pozitivna kontrola proizvoda).
 Otopina C = serija razrjeđenja od 4 epruvete vode za BET koja sadrži standard endotoksina u koncentracijama od 2λ , λ , $0,5\lambda$ i $0,25\lambda$.
 Otopina D = voda za BET (negativna kontrola).

8. FOTOMETRIJSKE KVANTITATIVNE TEHNIKE (METODE C, D, E I F)

1. TURBIDIMETRIJSKA TEHNIKA (METODE C I F)

Ova tehnika je fotometrijski test za mjerenje porasta zamućenja. Ovisno o korištenim principima u radu, ova se tehnika može svrstati u turbidimetrijski test završne tačke (*end-point*) i kinetičko-turbidimetrijski test.

End-point turbidimetrijski test (Metoda F) se bazira na kvantitativnom odnosu između koncentracije endotoksina i turbiditeta (apsorbancu ili transmisiju) reakcione mješavine na kraju inkubacionog perioda.

Kinetičko-turbidimetrijski test (Metoda C) je metoda kojom se mjeri vrijeme (početno vrijeme) potrebno da reakciona mješavina dostigne prethodno određenu apsorbancu ili transmisiju ili se mjeri brzina nastajanja zamućenja.

Test se provodi na temperaturi inkubacije koju preporučuje proizvođač lizata (obično $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

2. KROMOGENA TEHNIKA (METODE D I E)

Ova se tehnika koristi za mjerenje kromofora otpuštenih iz odgovarajućeg kromogenog peptida u reakciji endotoksina sa lizatom. Ovisno o tome koji se princip koristi, ova tehnika se može svrstati u kromogeni test završne tačke (*end-point*) ili kinetičko-kromogeni test.

End-point kromogeni test (Metoda E) bazira se na odnosu između koncentracije endotoksina i količine kromofora otpuštenih na kraju inkubacijskog perioda.

Kinetičko-kromogeni test (Metoda D) mjeri ili vrijeme (početno vrijeme) potrebno da reakciona mješavina dosegne prethodno određenu apsorbancu ili brzinu razvijanja boje.

Test se provodi na inkubacionoj temperaturi koju preporučuje proizvođač lizata (obično $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

3. PRIPREMNO ISPITIVANJE

Da bi se osigurala preciznost i validnost turbidimetrijskih i kromogenih tehnika, provode se pripremna testiranja kojima se pokazuje da su zadovoljeni kriteriji za standardnu krivu i da testna otopina ne pokazuje interferenciju sa testom.

(i) Osiguranje kriterija za standardnu krivu

Test se mora provesti za svaku seriju reagensa lizata.

Koristeći otopinu standarda endotoksina, pripremiti najmanje 3 koncentracije endotoksina u rasponu koji je naveo proizvođač lizata da bi se dobila standardna kriva. Provesti test uz najmanje tri ponavljanja za svaku otopinu standarda endotoksina po preporuci proizvođača lizata (odnos volumena, vrijeme inkubacije, temperatura, pH vrijednost itd.).

Ako je kod kinetičke metode željeni raspon veći od $2 \log_{10}$, moraju se tada uključiti dodatni standardi da bi se premostilo svako povećanje \log_{10} u rasponu standardne krive.

Apsolutna vrijednost koeficijenta korelacije (r) mora biti veća ili jednaka vrijednosti od 0,980 za postavljene opseg koncentracija endotoksina.

(ii) Test za faktore interferencije

Odabrati koncentraciju endotoksina na ili blizu sredine standardne krive endotoksina.

Pripremiti otopine A, B, C i D kako je prikazano u Tabeli 2.6.14.-4. Provesti test sa najmanje 2 ponavljanja ovih otopina prema preporuci proizvođača lizata (volumen testne otopine ili otopine lizata, odnos volumena testne otopine i otopine lizata, vrijeme inkubacije itd.).

Tabela 2.6.14.-4.

Otopina	Koncentracija endotoksina	Otopina u koju je dodan endotoksin	Broj ponavljanja
A	nema	testna otopina	ne manje od 2
B	srednja koncentracija standardne krive	testna otopina	ne manje od 2
C	najmanje 3 koncentracije (najniža koncentracija je označena λ)	voda za BET	svaka koncentracija ne manje od 2
D	nema	voda za BET	ne manje od 2

Otopina A = testna otopina koja se može razrijediti tako da ne prelazi MVD.
 Otopina B = ispitivani preparat u istom razrjeđenju kao otopina A s dodanim endotoksinom u koncentraciji na sredini ili blizu sredine standardne krive.
 Otopina C = otopina standarda endotoksina u koncentracijama korištenim u validaciji metode, kako je opisano pod 3. Pripremno ispitivanje, (i) Osiguranje kriterija za standardnu krivu (pozitivne kontrole).
 Otopina D = voda za BET (negativna kontrola).

Test se smatra validnim ako su zadovoljeni sljedeći uvjeti:

- apsolutna vrijednost faktora korelacije standardne krive dobijene korištenjem otopine C veća je ili jednaka 0,980;
- rezultat dobijen sa otopinom D ne prelazi limit slijepe vrijednosti zahtijevane u opisu korištenog reagensa lizata ili je manji od granice detekcije endotoksina korištenog reagensa lizata.

Izračunati srednju iskoristivost (engl. *recovery*) dodanog endotoksina oduzimanjem srednje koncentracije endotoksina u otopini (ako postoji) (otopina A, Tabela 2.6.14.-4) od one u otopini koja sadrži dodani endotoksin (otopina B, Tabela 2.6.14.-4).

Za ispitivanu otopinu se podrazumijeva da je bez faktora interferencije ako je pod uvjetima u kojima se izvodi test izmjerena koncentracija endotoksina koji je dodan u ispitivanu otopinu između 50 i 200% poznate dodane koncentracije endotoksina nakon što se oduzme svaki detektirani endotoksin u otopini bez dodanog endotoksina.

Kada je endotoksin *recovery* izvan specificiranog opsega, smatra se da testna otopina sadrži interferirajuće faktore. Ponoviti test koristeći veće razrjeđenje, ne prelazeći MVD. Interferencija testne otopine ili razrjeđenje testne otopine koja ne prelazi MVD može se ukloniti odgovarajućim validiranim tretmanom kao što su filtracija, neutralizacija, dijaliza ili tretman zagrijavanja. Da bi se utvrdilo da li odabrani tretman efikasno uklanja faktore interferencije bez gubitka endotoksina, ponoviti test za faktore interferencije koristeći preparat koji se ispituje, a kojem je dodan standard endotoksina i koji je potom podvrgnut izabranom tretmanu.

4. TEST

(i) Procedura

Slijediti proceduru opisanu pod 3. Pripremno ispitivanje, (ii) Test za faktore interferencije.

(ii) Izračunavanje

Izračunati koncentraciju svake paralele otopine A koristeći standardnu krivu dobijenu na osnovu serije razrjeđenja pozitivne kontrole otopine C.

Test se smatra validnim ukoliko su sljedeća 3 zahtjeva zadovoljena:

- (1) rezultati dobijeni sa otopinom C odgovaraju zahtjevima validacije definiranim pod 3. Pripremno testiranje, (i) Osiguranje kriterija za standardnu krivu;
- (2) *recovery* endotoksina, izračunat iz koncentracije endotoksina nađene u otopini B nakon oduzimanja koncentracije endotoksina nađene u otopini A je unutar opsega od 50 do 200%;

(3) rezultat dobijen iz otopine D (negativna kontrola) ne prelazi limit slijepe vrijednosti zahtijevane u opisu korištenog reagensa lizata ili je manji od granice detekcije endotoksina korištenog reagensa lizata.

(iii) Interpretacija

Ispitivani uzorak odgovara testu ako je srednja vrijednost koncentracije endotoksina svih ponavljanja otopine A, nakon korekcije razrjeđenja i koncentracije, manja od endotoksinskog limita za proizvod.

Vodič za test na bakterijske endotoksine dat je u općem poglavlju 5.1.10.

2.8.2. STRANE PRIMJESE

04/2014:20802

Biljne droge ne smiju sadržavati plijesni, insekte i druga onečišćenja životinjskoga porijekla.

Strane primjese su tvari koje obuhvataju jedno ili sve od niže navedenog:

- 1) *strani organi*: tvari koje potiču od iste biljke, ali nisu opisane kao biljna droga;
- 2) *strani elementi*: tvari koje ne potiču od iste biljke, a mogu biti biljnog ili mineralnog porijekla.

OSUŠENE BILJKE

Uzorkovanje i priprema uzorka. Postupi se kako je opisano u općem poglavlju 2.8.20. *Biljne droge: uzorkovanje i priprema uzorka.*

Određivanje stranih primjesa. Izvaga se od 100 g do 500 g ispitivanog uzorka ili najmanja količina propisana pojedinačnom monografijom i razastre u tankom sloju. Strane primjese pregledaju se golim okom ili pomoću povećala (6x). Strane se primjese izdvoje i izvagaju te se izračuna njihov udio izražen u postotcima.

SVJEŽE BILJKE

Kad nije moguće primijeniti opće poglavlje 2.8.20. *Biljne droge: uzorkovanje i priprema uzorka*, koristi se, kako je već primjereno, jedna od sljedećih metoda: metoda A koristi se kad je ispitivanje moguće provesti na cijeloj seriji droge; metoda B koristi se kad ispitivanje nije moguće provesti na cijeloj seriji droge.

METODA A

Uzorkovanje i priprema uzorka. Ispitivanje se provede na cijeloj seriji droge.

Određivanje stranih primjesa. Serija se razastre u tankom sloju. Strane se primjese pregledaju golim okom ili pomoću povećala (6x). Strane se primjese izdvoje i izvagaju te se izračuna njihov udio izražen u postotcima.

METODA B

Uzorkovanje i priprema uzorka. Ako nije moguće pregledati cijelu seriju, postupi se kako slijedi.

Uzorak sirovine. Uzorak sirovine pripremi se kako je opisano u općem poglavlju 2.8.20. *Biljne droge: uzorkovanje i priprema uzorka.*

Ispitivani uzorak. Koristi se uzorak sirovine ili, kada je uzorak sirovine veći od 1 kg, smanji se na masu 500–1000 g prikladnom metodom kojom će se zadržati reprezentativna priroda uzorka sirovine.

Određivanje stranih primjesa. Koristi se uzorak ili najmanja količina propisana pojedinačnom monografijom i razastre u tankom sloju. Strane se primjese pregledaju golim okom ili pomoću povećala (6x). Strane se primjese izdvoje i izvagaju te se izračuna njihov udio izražen u postotcima.

2.8.4. BROJ BUBRENJA

01/2008:20804

Broj bubrenja je volumen u mililitrima koji zauzima 1 g biljne droge, uključujući prijanjajuću sluz, nakon 4 sata bubrenja u vodenoj otopini.

U menzuru od 25 mL s čepom od brušenog stakla, građiranu duž visine od 125 ± 5 mm, s odjeljcima od po 0,5 mL, stavi se 1,0 g biljne droge, neusitnjene ili stepena usitnjenosti propisanog u monografiji. Osim ako nije drugačije propisano, biljna se droga navlaži s 1,0 mL *alkohola R*, doda 25 mL *vode R* i menzura se zatvori. Snažno se protrese svakih 10 minuta u toku jednog sata te ostavi da stoji 3 sata. Nakon 90 minuta od početka ispitivanja okretanjem menzure oko uzdužne ose oslobode se svi veći volumeni tekućine zaostali u sloju biljne droge, kao i plutajuće čestice biljne droge na površini tekućine. Izmjeri se volumen koji zauzima biljna droga, zajedno s prijanjajućom sluzi. Istovremeno se izvode tri uporedna ispitivanja.

Broj bubrenja odgovara srednjoj vrijednosti tri ispitivanja.

2.8.8. MIRIS I OKUS ETERIČNIH ULJA

01/2008:20808

Pomiješaju se 3 kapi eteričnog ulja sa 5 mL *alkohola (90% V/V) R* i izmiješa sa 10 g u prah usitnjene *saharoze R*. Miris i okus su slični mirisu i okusu biljke ili dijelova biljke od koje je dobiveno eterično ulje.

2.8.12. ETERIČNA ULJA U BILJNIM DROGAMA

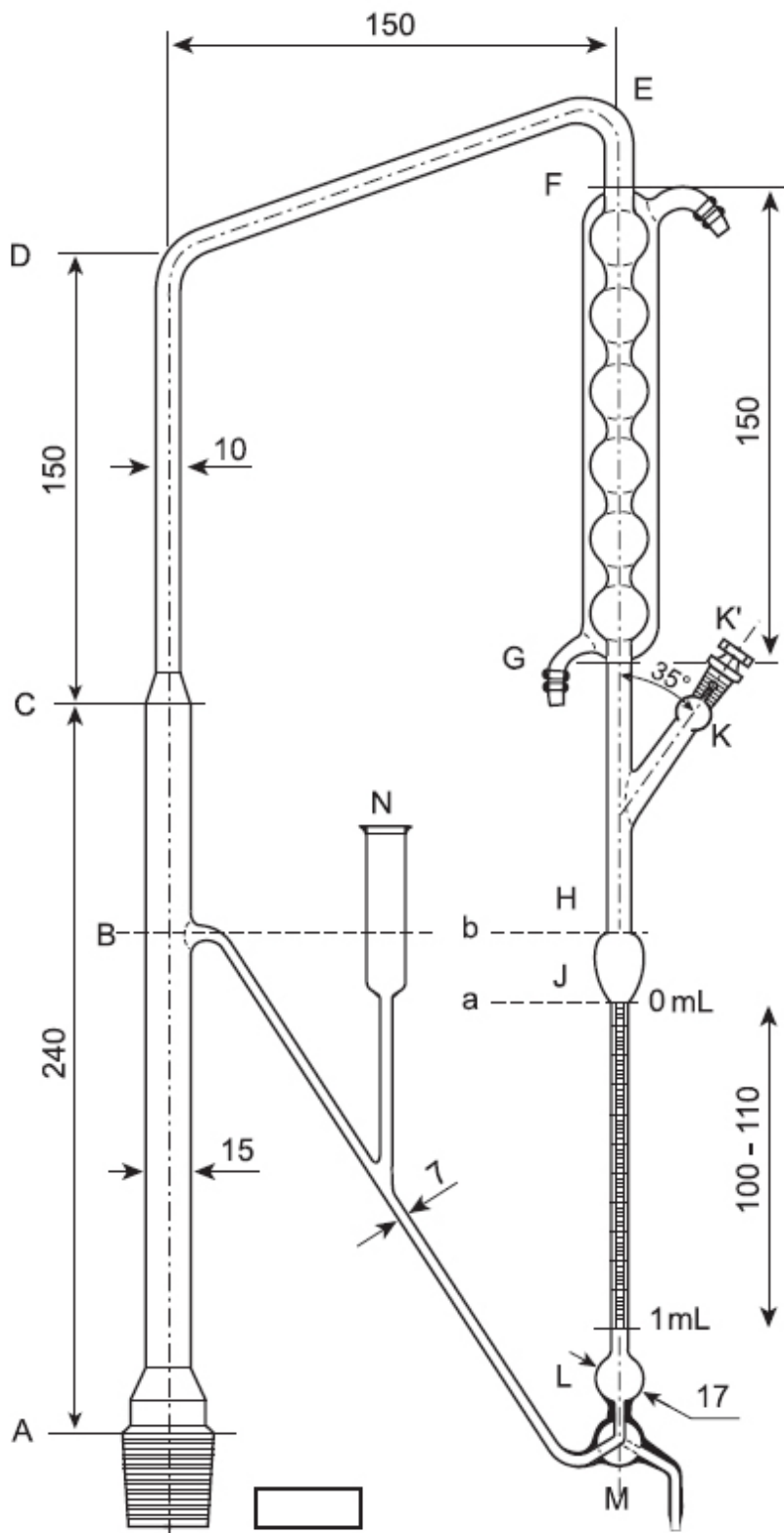
01/2008:20812

korigovan 6.0

Određivanje eteričnih ulja u biljnim drogama provodi se destilacijom vodenom parom u posebnom uređaju i u niže navedenim uslovima. Destilat se skuplja u građiranoj cijevi, uz korištenje ksilena kao otapala za eterično ulje, a vodena se faza mehanički vraća u tikvicu za destilaciju.

Uređaj. Uređaj obuhvaća sljedeće dijelove:

- a) odgovarajuću tikvicu okruglog dna i kratkog grla od brušenog stakla, unutrašnjeg promjera oko 29 mm na širem kraju;
- b) sklop hladila (vidi Sliku 2.8.12.-1) koje dobro prijanja na tikvicu, tj. različiti dijelovi stakla staljeni su u jedinstven dio, a upotrijebljeno je staklo niskog koeficijenta širenja:
 - čep *K'* je s oduškom, a cijev *K* ima otvor promjera oko 1 mm, koji se podudara s oduškom; širi kraj cijevi *K* od ubrušenog je stakla i unutrašnjeg promjera 10 mm;
 - kruškoliko proširenje *J*, volumena 3 mL;
 - cjevčica *JL*, građirana na odjeljke od 0,01 mL;
 - kuglasto proširenje *L*, volumena oko 2 mL;
 - trosmjerni ventil *M*;
 - spojnica *B* postavljena na visini 20 mm većoj od gornje oznake građiranog dijela;
- c) prikladni uređaj za zagrijavanje, koji omogućava preciznu regulaciju temperature;
- d) uspravni stalak s vodoravnim prstenom prekrivenim izolacijskim materijalom.



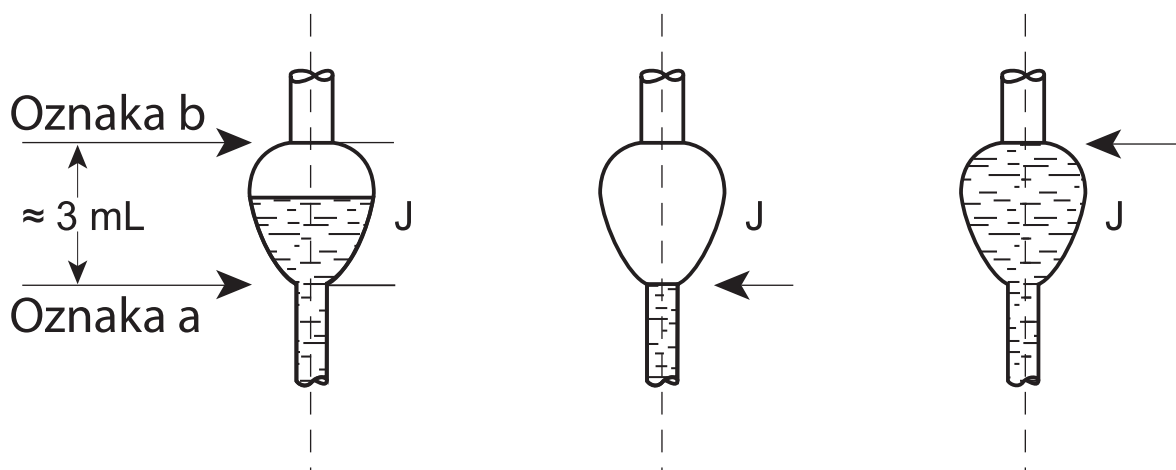
Slika 2.8.12.-1. Uređaj za određivanje sadržaja eteričnog ulja u biljnim drogama

Dimenzije u milimetrima

Metoda. Koristi se temeljito očišćen uređaj. Određivanje se provodi ovisno o prirodi ispitivane biljne droge. U tikvicu se stavi propisani volumen tekućine za destilaciju, doda nekoliko komadića poroznog porculana i pričvrsti sklop hladila. Pomoću lijevka za punjenje *N* ulije se *voda R* do razine *B*. Skine se čep *K'* i pipetom, čiji vrh treba dodirivati dno cijevi *K*, unese propisana količina *ksilena R*. Čep *K'* vrati se na staro mjesto i osigura da se

otvor cijevi podudara s oduškom čepa. Tekućina se u tikvici zagrijava do vrenja, a brzina destilacije prilagodi na 2 do 3 mL po minuti, osim ako nije drugačije propisano.

Za određivanje brzine destilacije tijekom destilacije spusti se razina vode pomoću trosmjernog ventila (na bočnoj cijevi) dok se meniskus ne spusti do donje oznake (a) (vidi Sliku 2.8.12.-2). Zatvori se ventil i izmjeri vrijeme potrebno da tekućina dosegne gornju oznaku (b). Otvori se ventil i nastavi destilacija, uz kontrolu zagrijavanja kako bi se regulirala brzina destilacije. Destilira se 30 minuta. Potom se prekine zagrijavanje i nakon najmanje 10 minuta očita volumen ksilena u graduiranoj cjevčici.



Slika 2.8.12.-2.

U tikvicu se stavi propisana količina biljne droge i nastavi se destilacija, kao što je gore opisano, kroz propisano vrijeme i propisanim brzinom. Zagrijavanje se prekine i nakon 10 minuta očita volumen tekućine skupljene u graduiranoj cijevi i od toga oduzme prethodno zabilježen volumen ksilena. Razlika predstavlja količinu eteričnog ulja u masi uzete biljne droge. Rezultat se izrazi kao mililitri na kg biljne droge.

Kad je eterično ulje potrebno za druge analitičke svrhe, bezvodna se smjesa ksilena i eteričnog ulja može dobiti tako da se skine čep *K* i unese 0,1 mL 1 g/L otopine *natrijevog fluoresceinata R* i 0,5 mL *vode R*. Smjesa ksilena i eteričnog ulja ispusti se u kuglasto proširenje *L* pomoću trosmjernog ventila, ostavi 5 minuta te se smjesa polako ispusti, dok ne dosegne razinu ventila *M*. Otvori se ventil suprotno od smjera kazaljke na satu da bi voda istekla iz spojne cijevi *BM*. Kroz lijevak za punjenje *N* cijev se ispere *acetonom R* i zatim s malo *toluena R*. Ventil se okrene suprotno od smjera kazaljke na satu kako bi se smjesa ksilena i eteričnog ulja ponovno prikupila u odgovarajuću tikvicu.

2.8.14. TANINI U BILJNIM DROGAMA

01/2008:20814

Sve ekstrakcije i postupci razrjeđivanja provode se zaštićeno od svjetlosti.

U slučaju biljne droge ili suhog ekstrakta, propisanoj količini praškaste biljne droge (180) (2.9.12) ili ekstrakta doda se 150 mL *vode R* u tikvici od 250 mL okruglog dna. Zagrije se na vodenom kupatilu 30 minuta. Ohladi se pod mlazom vode i kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu od 250 mL. Tikvica okruglog dna se ispere, a ispirci skupe u odmjernoj tikvici, te sve razrijedi *vodom R* do 250,0 mL. Ostavi se da se krute čestice istalože i zatim tekućina filtrira kroz filter papir promjera 125 mm. Prvih 50 mL filtrata se odbaci.

U slučaju tekućeg ekstrakta ili tinkture, propisana količina razrijedi se *vodom R* do 250,0 mL. Smjesa se filtrira kroz filter papir promjera 125 mm. Prvih 50 mL filtrata se odbaci.

Ukupni polifenoli. 5,0 mL filtrata razrijedi se *vodom R* do 25,0 mL. Zatim se 2,0 mL ove otopine pomiješa sa 1,0 mL *fosfomolibdenvolframovog reagensa R* i 10,0 mL *vode R* i razrijedi do 25,0 mL otopinom 290 g/L *natrijevog karbonata R*. Nakon 30 minuta izmjeri se apsorbanca (2.2.25) na 760 nm (A_1), koristeći *vodu R* kao kompenzacijsku tekućinu.

Polifenoli koji se ne adsorbiraju na kožni prašak (engl. *hide powder*). U 10,0 mL filtrata doda se 0,10 g *kožnog praška CRS* i snažno mućka 60 minuta. Filtrira se i 5,0 mL filtrata razrijedi do 25,0 mL *vodom R*. Zatim se 2,0 mL ove otopine pomiješa sa 1,0 mL *fosfomolibdenvolframovog reagensa R* i 10,0 mL *vode R* i razrijedi do 25,0 mL otopinom 290 g/L *natrijevog karbonata R*. Nakon 30 minuta izmjeri se apsorbanca (p. 2.2.25) na 760 nm (A_2) koristeći *vodu R* kao kompenzacijsku tekućinu.

Standard. Neposredno prije upotrebe 50,0 mg *pirogalola R* otopi se u *vodi R* i istim otapalom razrijedi do 100,0 mL. Zatim se 5,0 mL otopine razrijedi *vodom R* do 100,0 mL. Zapremina od 2,0 mL ove otopine pomiješa se sa 1,0 mL *fosfomolibdenvolframovog reagensa R* i 10,0 mL *vode R* i razrijedi do 25,0 mL otopinom 290 g/L *natrijevog karbonata R*. Nakon 30 minuta izmjeri se apsorbanca (2.2.25) na 760 nm (A_3) koristeći *vodu R* kao kompenzacijsku tekućinu.

Postotak sadržaja tanina izračuna se, izraženo kao pirogalol, prema izrazu:

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

m_1 = masa ispitivanog uzorka, u gramima;

m_2 = masa pirogalola, u gramima.

2.8.15. INDEKS GORČINE

01/2008:20815

Vrijednost gorčine predstavlja recipročnu vrijednost razblaženja ispitivanog uzorka, tekućine ili ekstrakta koji se još uvijek osjeti izrazito gorkim. Određivanje vrijednosti gorčine vrši se poređenjem sa hinin hidrohloridom, čija je vrijednost gorčine 200 000.

Određivanje korekcionog faktora

Preporučuje se da najmanje 6 osoba vrši ispitivanje. Usta ispitanika moraju biti isprana *vodom R* prije testiranja. U svrhu korekcije individualnih razlika u ispitivanju gorčine između ispitanika, potrebno je odrediti korekциони faktor za svakog od ispitanika.

Osnovni rastvor

Potrebno je rastvoriti 0,100 g *hinin hidrohlorida R* u *vodi R*, a potom razblažiti do 100,0 mL istim rastvaračem. Razblažiti 1,0 mL ovog rastvora do 100,0 mL *vodom R*.

Radna otopina

Serijski razblaženja se priprema počevši od 3,6 mL osnovnog rastvora, povećavajući volumen za 0,2 mL do ukupnog volumena od 5,8 mL osnovnog rastvora, a potom se svaka od epruveta razblaži do 10,0 mL *vodom R*.

Potrebno je odrediti razblaženje najnižom koncentracijom koja još uvijek ima gorak okus na sljedeći način: 10 mL radne otopine sa najnižom koncentracijom izmučka se u ustima na korijenu jezika u trajanju od 30 sekundi. Ukoliko se ovo razblaženje ne osjeti gorkim, ispljunuti i sačekati 1 minutu te isprati usta *vodom R*. Nakon 10 minuta ispitanik ponavlja postupak sa razblaženjem veće koncentracije od prethodno ispitivanog.

Izračuna se faktor korekcije k za svakog ispitanika prema sljedećem izrazu:

$$k = \frac{n}{5,00}$$

n = broj mililitara osnovnog rastvora u razrjeđenju radne otopine sa najnižom koncentracijom koja se osjeti gorkom.

Osobe koje nisu u mogućnosti osjetiti gorčinu radne otopine pripremljene sa 5,8 mL osnovnog rastvora isključuju se iz ispitivanja.

Priprema uzorka

Ukoliko je potrebno, droga se pulverizira (710) (2.9.12). Na 1,0 g droge dodati 100 mL kipuće *vode R* i zagrijavati 30 minuta na vodenom kupatilu, uz kontinuirano miješanje. Kada se dekokt ohladi, dopuni se *vodom R* do 100 mL. Prije filtracije dekokt je potrebno snažno promućkati. Prvih 2 mL filtrata se odbacuje. Ovako dobiven filtrat označava se sa C-1 i ima dilucionni faktor (DF) 100. Ukoliko se radi o ispitivanju tekućine, razrijedi se 1 mL tekućine prikladnim otapalom do 100 mL i označi sa C-1.

Određivanje vrijednosti gorčine

Razblaženja dekokta:

10,0 mL C-1 je razblažen <i>vodom R</i> do 100 mL: C-2	(DF = 1000)
10,0 mL C-2 je razblažen <i>vodom R</i> do 100 mL: C-3	(DF = 10 000)
20,0 mL C-3 je razblažen <i>vodom R</i> do 100 mL: C-3A	(DF = 50 000)
10,0 mL C-3 je razblažen <i>vodom R</i> do 100 mL: C-4	(DF = 100 000)

Počevši od razblaženja C-4, svaki ispitanik determinira razblaženje koje se još uvijek osjeti izrazito gorkim. To razblaženje je označeno sa D, a DF razblaženja D sa Y.

Od otopine D priprema se sljedeći niz razblaženja:

Tabela 3.

Razblaženje D (mL)	1,2	1,5	2,0	3,0	6,0	8,0
Voda R (mL)	8,8	8,5	8,0	7,0	4,0	2,0

Odredi se broj mililitara rastvora D koji razblažen do 10,0 mL *vodom R*, još uvijek ima gorak okus (X).

Izračuna se vrijednost gorčine za svakog ispitanika prema sljedećem izrazu:

$$\left(\frac{Y \times k}{X \times 0,1} \right)$$

Vrijednost gorčine uzorka se izražava kao prosječna vrijednost gorčine za svakog od ispitanika.

2.8.16. SUHI OSTATAK EKSTRAKATA

01/2008:20816

U posudu ravnog dna, promjera oko 50 mm i visine oko 30 mm, stavi se 2,00 g ili 2,00 mL ispitivanog ekstrakta. Upari se do suha na vodenom kupatilu i suši u sušioniku 3 sata na 100–105°C. Ostavi se hladiti u eksikatoru iznad *difosforovog pentoksida R* ili *bezdvodnog silikagela R* i izvaži. Rezultat se izrazi kao maseni postotak ili u gramima po litri.

2.8.17. GUBITAK SUŠENJEM EKSTRAKATA

01/2008:20817

U posudi ravnog dna, promjera oko 50 mm i visine oko 30 mm, izvaži se 0,50 g ispitivanog ekstrakta, usitnjelog u prah. Suši se u sušioniku 3 sata na 100–105°C. Ostavi se hladiti u eksikatoru iznad *difosforovog pentoksida R* ili *bezdvodnog silikagela R* i izvaži. Rezultat se izrazi kao maseni postotak.

2.8.23. MIKROSKOPSKI PREGLED BILJNIH DROGA

04/2010:20823

Mikroskopski pregled biljnih droga provodi se na sprášenoj drogi (355) (2.9.12), osim ako monografijom nije drugačije propisano.

Otopina hloralhidrata R je najčešće propisivani reagens. Međutim, nakon obrade ovim reagensom neka obilježja nisu vidljiva ili se teško uočavaju. U tom se slučaju koriste drugi reagensi, na primjer 50% V/V otopina *glicerola R* koja omogućava vizualiziranje škrobnih zrnaca. Može se ukazati potreba da se monografijom propišu specifični reagensi, na primjer: *laktatni reagens R* koji se koristi za dokazivanje prisutnosti različitih specifičnosti, 10% V/V alkoholna otopina *floroglucinola R* i *hloridna kiselina R* koje se koriste za identifikaciju prisutnosti lignina u stanicama ili tkivima, otopina *rutenijeveg crvenila R* koja se koristi za dokazivanje prisutnosti sluzi u stanicama ili *glicerol R*, koji se koristi za dokazivanje prisutnosti škroba i inulina.

Ispitivanje pod polariziranim svjetlom (između ukrštenih nikolovih prizmi) koristi se za identifikaciju škrobnih zrnaca (pojava crnog križa), kristala kalcijeveg oksalata (lom svjetlosti) ili lignificiranih struktura.

PREPARAT U OTOPINI HLORALHIDRATA

Na predmetno stakalce stave se 2–3 kapi *otopine hloralhidrata R*. Vrlo mala količina praškaste droge rasprši se u tekućini i preparat se prekrije pokrovnim stakalcem. Preparat se lagano zagrije do vrenja na vrućoj ploči ili malom plinskom plameniku. Pusti se da lagano vrije kratko vrijeme. Treba paziti da preparat ima dovoljno tekućine. Ako je potrebno, doda se još tekućine pomoću šiljaste staklene pipete. Ostavi se hladiti i potom pregleda pod mikroskopom. Zagrijavanje se ponavlja dok škrobna zrnca i sastojci topivi u vodi više nisu vidljivi. Pregleda se pod mikroskopom.

Hloralhidrat pokazuje sklonost stvaranju kristala u obliku dugačkih iglica. Kako bi se to spriječilo, napravi se sljedeće: nakon zagrijavanja makne se pokrovno stakalce, preparatu se doda 1 kap 10% V/V smjese *otopine hloralhidrata R* u *glicerolu R*, preparat se prekrije čistim pokrovnim stakalcem te pregleda pod mikroskopom.

PREPARAT U 50% V/V OTOPINI GLICEROLA

Na predmetno stakalce stave se 2 kapi 50% V/V otopine *glicerola R*. Vrlo mala količina praškaste droge rasprši se u tekućini i prekrije pokrovnim stakalcem. Pregleda se pod mikroskopom.

PREPARAT U 10% V/V ALKOHOLNOJ OTOPINI FLOROGLUCINOLA I KLORIDNOJ KISELINI

Vrlo mala količina praškaste droge stavi se na predmetno stakalce. Doda se 1–2 kapi 10% V/V alkoholne otopine *floroglucinola R*. Promiješa se i pusti da otapalo gotovo potpuno ishlapi. Doda se 1–2 kapi *hloridne kiseline R* i preparat prekrije pokrovnim stakalcem. Odmah se pregleda pod mikroskopom. Crvena boja ukazuje na prisutnost lignina.

PREPARAT U LAKTATNOM REAGENSU

Na predmetno stakalce stave se 2–3 kapi *laktatnog reagensa R*. Vrlo mala količina praškaste droge rasprši se u tekućini i preparat se prekrije pokrovnim stakalcem. Preparat se lagano zagrije do vrenja. Pusti se da lagano vrije kratko vrijeme. Treba paziti da preparat ima dovoljno tekućine. Ako je potrebno, doda se još tekućine pomoću šiljaste staklene pipete. Ostavi se da se ohladi i potom pregleda pod mikroskopom. Lignificirane strukture oboje se svijetlo žuto; strukture s celulozom ostaju bezbojne. Zrnca škroba oboje se jače ili slabije ljubičasto; određeni sekreti (npr. eterična ulja, smole, uljne smole) oboje se narančasto, a pluto crveno.

PREPARAT U OTOPINI RUTENIJEVOG CRVENILA

Na predmetno stakalce stave se 2 kapi *otopine rutenijevo crvenila R*. Vrlo mala količina praškaste droge rasprši se u tekućini i preparat se prekrije pokrovnim stakalcem. Nakon otprilike 1 minute kapljica *destilirane vode R* se prinese i pusti da bude uvučena između predmetnog i pokrovnog stakalca. Pregleda se pod mikroskopom. Sluz se oboji ljubičasto-crveno.

2.9.1. RASPADLJIVOST TABLETA I KAPSULA

04/2011:20901

Ovaj test se sprovodi da bi se utvrdilo raspadaju li se tablete i kapsule u propisanom vremenu kada se stave u tečni medijum pod dolje opisanim eksperimentalnim uslovima.

Za potrebe ovog testa, raspadljivost ne podrazumijeva potpuno rastvaranje dozne jedinice ili njene aktivne supstance. Potpuna raspadljivost je definisana kao stanje u kojem bilo koji ostatak dozne jedinice koji zaostaje na mreži aparature za testiranje ili koji prijanja uz donju površinu diskova, ako se koriste, osim dijelova nerastvornog sloja sredstva za oblaganje ili ovojnice kapsule, predstavlja mekanu masu koja nema čvrstu, opipljivu jezgru.

Aparaturu A koristiti za tablete i kapsule koje nisu duže od 18 mm. Za veće tablete ili kapsule koristiti aparaturu B.

TEST A – TABLETE I KAPSULE NORMALNE VELIČINE

Aparatura. Aparatura se sastoji od konstrukcije košare i nosača, čaše zapremine jedne litre, standardne 1-litarske laboratorijske posude visine 149 ± 11 mm i unutrašnjeg prečnika od 106 ± 9 mm, koja služi za tačnost za uranjanje, uređaja sa termostatom za zagrijavanje tečnosti na temperaturi između 35°C i 39°C i uređaja za podizanje i spužtanje košare u tečnost za uranjanje pri konstantnoj frekvenciji između 29 i 32 ciklusa u minuti

na udaljenosti od 55 ± 2 mm. Zapremina tečnosti u posudi mora biti takva da kod krajnjeg gornjeg položaja žičana mreža ostaje najmanje 15 mm ispod površine tečnosti, a ne spušta se niže od 25 mm od dna posude kod krajnjeg donjeg položaja. Ni u jednom momentu vrh košare i nosača ne smije biti potopljen. Vremenski interval potreban za gornji zamah jednak je vremenskom intervalu potrebnom za donji zamah, pri čemu se promjena pravca zamaha vrši lagano, a ne naglim pokretom. Konstrukcija košare i nosača se pomiče vertikalno duž svoje osovine. Ne smije biti značajnog horizontalnog ili drugačijeg kretanja ose osim vertikalnog.

Konstrukcija košare i nosača. Konstrukcija košare i nosača sastoji se od šest providnih cilindara sa otvorenim krajem, svaka dužine $77,5 \pm 2,5$ mm, unutrašnjeg prečnika od $21,85 \pm 1,15$ mm i debljine stijenke od $1,9 \pm 0,9$ mm. Cilindri se u uspravnom položaju drže pomoću dvije ploče prečnika po 90 ± 2 mm i debljine po $6,75 \pm 1,75$ mm, koje na sebi imaju šest otvora, prečnika po 24 ± 2 mm i jednakog razmaka od centra ploče i jedna od druge. Za donju površinu donje ploče pričvršćena je žičana mrežica kvadratnog oblika tkanja sa veličinom otvora od $2,0 \pm 0,2$ mm i prečnikom žice od $0,615 \pm 0,045$ mm. Dijelovi aparature se drže čvrsto pričvršćeni pomoću tri vijka koji prolaze kroz dvije ploče.

Primijeniti odgovarajući način da bi se konstrukcija košare i nosača odvojila od uređaja za podizanje i spuštanje, koristeći tačku na njegovoj osovini.

Konstrukcija košare i nosača može donekle varirati pod uslovom da su ispunjeni zahtjevi za staklene cilindre kao i za veličinu rešetke. Konstrukcija košare i nosača je u skladu sa dimenzijama prikazanim na Slici 2.9.1.-1.

Diskovi. Upotreba diskova je dozvoljena samo tamo gdje je to naznačeno. Svaki cilindar ima cilindrične diskove debljine $9,5 \pm 0,15$ mm i prečnika $20,7 \pm 0,15$ mm. Diskovi su izrađeni od odgovarajuće providne plastike specifične težine 1,18–1,20. Pet paralelnih otvora veličine $2 \pm 0,1$ se nalaze između krajeva cilindra. Jedan od otvora je centriran na osovini cilindričnog diska. Ostali otvori su centrirani na $6 \pm 0,2$ mm od osovine, na zamišljenim linijama vertikalnim u odnosu na osovinu i koje su međusobno paralelne. Četiri jednake ploče trapezoidnog oblika su urezane u zid cilindričnog diska, gotovo vertikalne u odnosu na krajeve cilindra. Trapezoidne površine su simetrične; njihove paralelne strane se podudaraju sa krajevima cilindra i paralelne su zamišljenoj liniji koja spaja centre 2 susjedna otvora na 6 mm od cilindrične osovine. Paralelna strana trapezoida na dnu cilindra je dužine $1,6 \pm 0,1$ mm, a njene donje ivice leže na dubini od 1,5 mm do 1,8 mm od oboda cilindra. Paralelna strana trapezoida na vrhu cilindra je dužine $9,4 \pm 0,2$ mm, a njeno središte se nalazi na dubini od $2,6 \pm 0,1$ mm od oboda cilindra. Sve površine diska su glatke.

Ako je upotreba diska propisana, disk se stavi u svaki cilindar, te se sa aparatom postupa kao što je opisano u Proceduri. Diskovi odgovaraju dimenzijama prikazanim na Slici 2.9.1.-1.

Automatska detekcija koja koristi modifikovane diskove dozvoljena je tamo gdje je upotreba diskova propisana. Takvi diskovi moraju odgovarati zahtjevima gustine i dimenzijama datim u ovom poglavlju.

Procedura. Staviti po jednu doznu jedinicu u svaki od 6 cilindara na košari i, ako je tako propisano, dodati disk. Rukovati aparaturom uz upotrebu propisanog medijuma kao tečnosti za uranjanje, održavati temperaturu na $37 \pm 2^\circ\text{C}$. Na kraju propisanog vremena, podići košaru izvan tečnosti i posmatrati dozne jedinice: svaka od doznih jedinica se potpuno raspala. Ako se 1 ili 2 dozne jedinice nisu raspale, ponoviti test na 12 dodatnih doznih jedinica. Zahtjevi testa su zadovoljeni ako se najmanje 16 od 18 testiranih doznih jedinica raspalo.

TEST B – VELIKE TABLETE I VELIKE KAPSULE

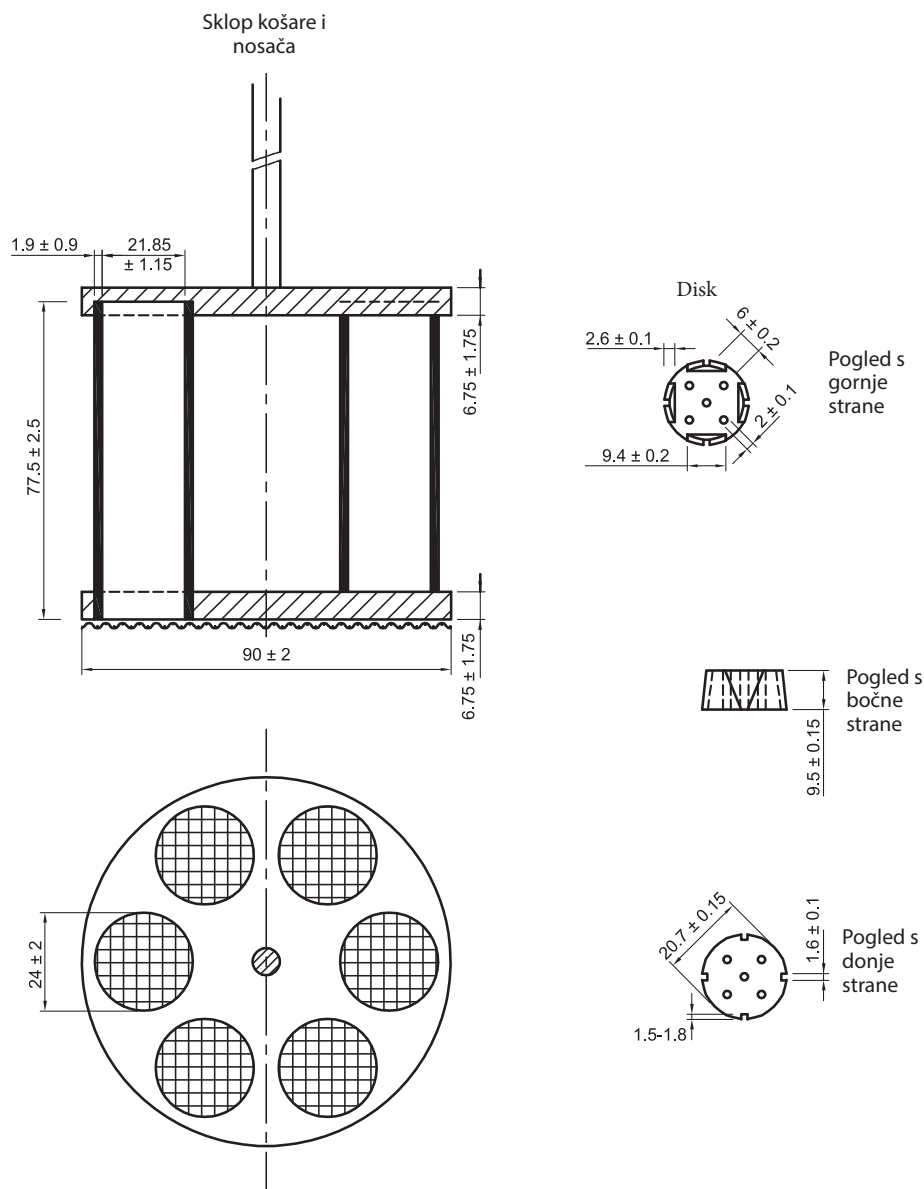
Aparatura. Glavni dio aparature (Slika 2.9.1.-2) čvrsta je košara sa 3 providna cilindra dužine $77,5 \pm 2,5$ mm, unutrašnjeg prečnika $33,0 \text{ mm} \pm 0,5$ mm i zidova debljine $2,5 \pm 0,5$ mm. Svaki cilindar ima i disk cilindričnog oblika prečnika $31,4 \pm 0,13$ mm i debljine $15,3 \pm 0,15$ mm, izrađen od providne plastike relativne gustine 1,18–1,20. Svaki disk ima 7 otvora, prečnika $3,15 \pm 0,1$ mm, od kojih je jedan u centru, a ostalih 6 su ravnomjerno raspoređeni u krugu poluprečnika 4,2 mm od centra diska. Dvije odvojene ploče od čvrste plastike postavljene su jedna iznad druge; ploče su prečnika 97 mm, 9 mm debljine, a cilindre drže u vertikalnom položaju pomoću 3 otvora. Razmak između susjednih otvora, kao i razmak između otvora i centra ploče je jednak. Na donju stranu donje ploče pričvršćen je komadić tkane žičane mrežice izrađen od nerđajućeg čelika prečnika $0,63 \pm 0,03$ mm i otvora na tkanju mrežice veličine $2,0 \pm 0,2$ mm. Ploče su čvrsto pričvršćene i odvojene jedna od druge

na 77,5 mm pomoću vertikalnih metalnih šipki smještenih na rubu. Metalna šipka je takođe fiksirana za centar gornje ploče da bi se omogućilo da se konstrukcija pričvrsti za mehanički uređaj za lagano podizanje i spuštanje pri konstantnoj frekvenciji od 29 do 32 ciklusa u minuti po dužini od 55 ± 2 mm.

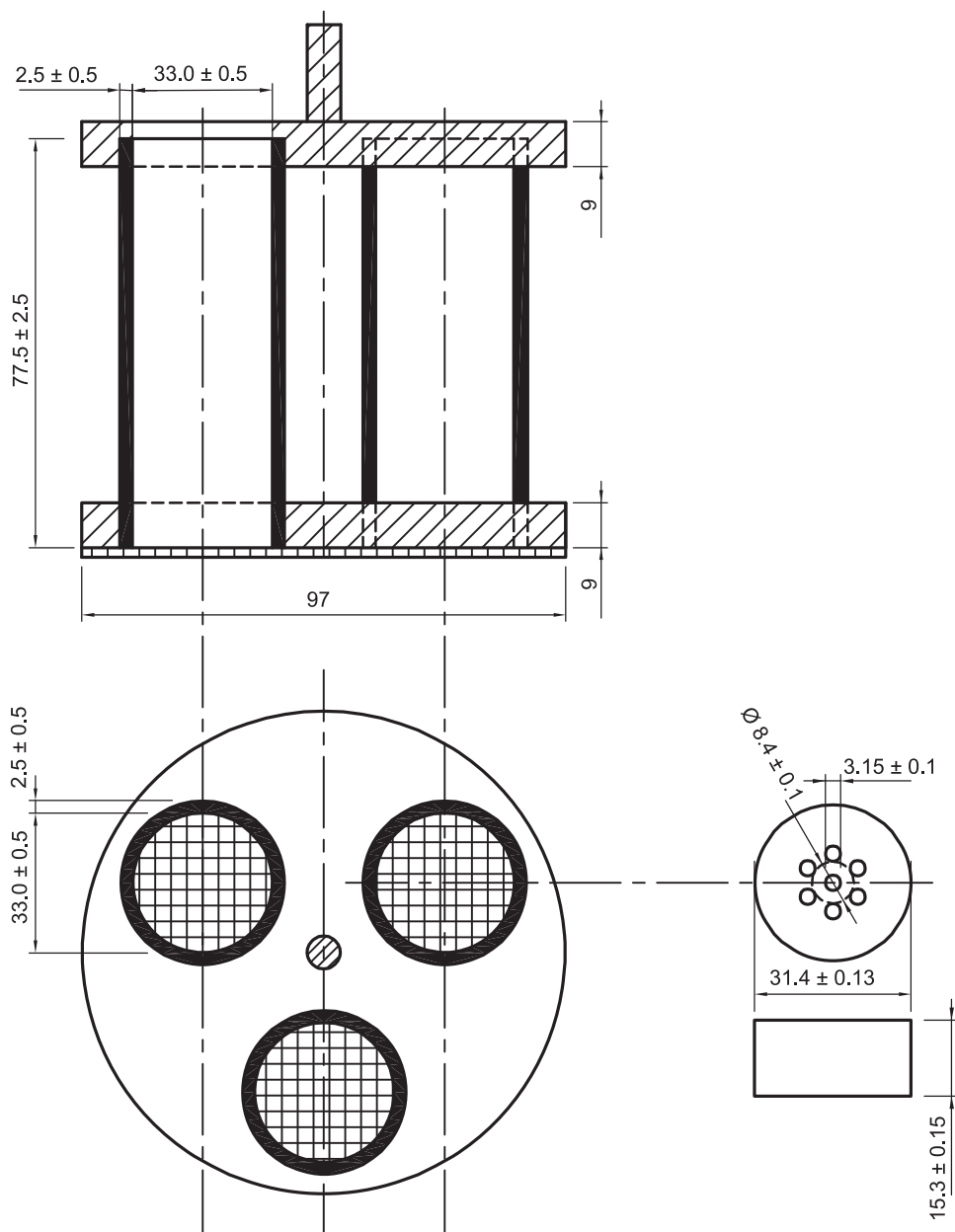
Ova konstrukcija je uronjena u propisani tečni medijum u odgovarajućoj posudi, najbolje u standardnoj laboratorijskoj posudi, zapremine od 1 L. Zapremina tečnosti u posudi je takva da kada je konstrukcija u najvišem položaju, žičana rešetka se nalazi na najmanje 15 mm ispod površine tečnosti. Kada je konstrukcija u najnižem položaju, žičana rešetka se nalazi na najmanje 25 mm iznad dna posude, dok gornji otvoreni krajevi cilindara ostaju iznad površine tečnosti. Odgovarajući uređaj održava temperaturu tečnosti na 35–39°C.

Izgled konstrukcije košare i nosača može da varira pod uslovom da se prate specifikacije tuba i žičane rešetke.

Metoda. Testirati 6 tableta ili kapsula korištenjem 2 košare istovremeno ili dvostrukim ponavljanjem procedure u jednoj. U svaku od 3 tube postaviti po jednu tabletu ili kapsulu i, ako je tako propisano, dodati disk nakon čega se konstrukcija uroni u čašu s odgovarajućim medijumom. Uključiti aparaturu na propisano vrijeme, izvaditi košaru i pregledati stanje tableta ili kapsula. Da bi uzorak bio u skladu sa zahtjevima testa, svaka od 6 tableta ili kapsula mora se raspasti.



Slika 2.9.1.-1. Uređaj za raspadljivost A, dimenzije u milimetrima



Slika 2.9.1.-2. Uređaj za raspadljivost B, dimenzije u milimetrima

2.9.2. RASPADLJIVOST SUPOZITORIJA I VAGITORIJA

01/2008:20902

Ispitivanjem raspadljivosti provjerava se da li će supozitorije ili vagitorije u propisanom vremenu i pod dolje navedenim eksperimentalnim uslovima da omekšaju ili se raspadnu u tečnom medijumu.

Smatra se da je raspadanje postignuto kada:

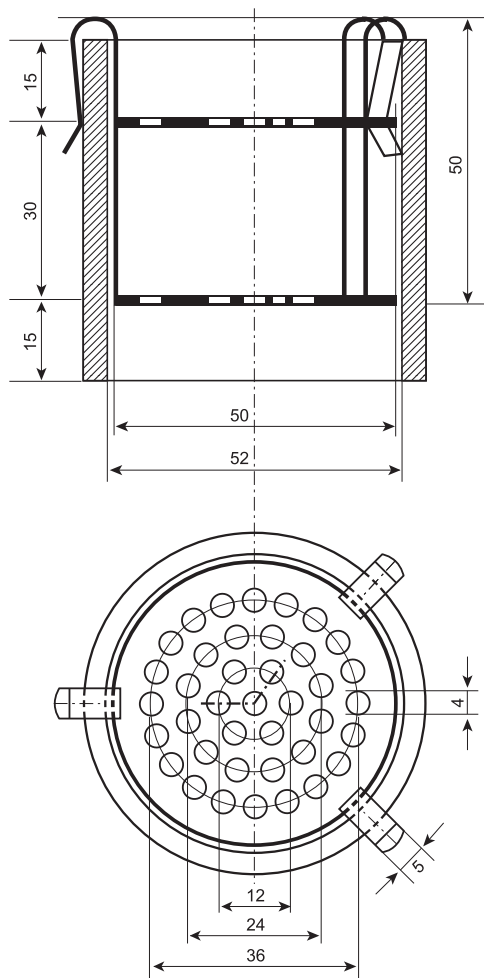
- je rastvaranje kompletno,
- došlo je do razdvajanja komponenti u sastavu supozitorija ili vagitorija; otopljene masne supstance se izdvajaju na površini tečnosti, nerastvoreni praškovi se talože na dnu, a rastvorene komponente rastvaraju; zavisno od tipa pripreme, komponente mogu da se distribuiraju na jedan ili više pomenutih načina,

- c) uzorak omekšava, što može biti praćeno značajnom promjenom njegovog oblika, bez potpunog razdvajanja komponenti, omekšavanje je takvo da supozitorija ili vagitorija nema više čvrsto jezgro koje ne pruža otpor pod pritiskom staklenog štapića,
- d) javlja se pucanje želatinske čahure u kapsulama za rektalnu ili vaginalnu upotrebu pri čemu se oslobađa sadržaj,
- e) na perforiranom disku nema ostatka ili, ako ga ima, ostaje samo mekana ili pjenasta masa bez čvrstog jezgra koje ne pruža otpor pod pritiskom staklenim štapićem (vaginalne tablete).

Aparatura. Aparatura (Slika 2.9.2.-1) se sastoji od jedne cijevi, izrađene od stakla ili transparentne plastike, odgovarajuće debljine zida. U cijevi se nalaze dva perforirana diska od nerđajućeg metala udaljena jedan od drugoga oko 30 mm; dijametar diska je skoro jednak dijametru cijevi. Svaki od diskova ima po 39 kružnih otvora, dijametra 4 mm. Diskovi su zakačeni na cijev uz pomoć specijalnog metalnog držača sa tri spojnice.

Test se izvodi korištenjem tri ovakve aparature, od kojih svaka sadrži po jedan uzorak. Svaka od ovih aparatura se postavlja u posudu kapaciteta najmanje 4 L, napunjenu vodom čija je održavana temperatura 36–37 °C, ukoliko nije drugačije propisano. Aparature mogu da se postave zajedno u posudu čiji je kapacitet najmanje 12 L. Posuda je opremljena jednom miješalicom koja se lagano okreće i uređajem koji će držati staklene cijevi uspravno, ne manje od 90 mm ispod površine vode, i omogućiti okretanje, bez vađenja iz vode.

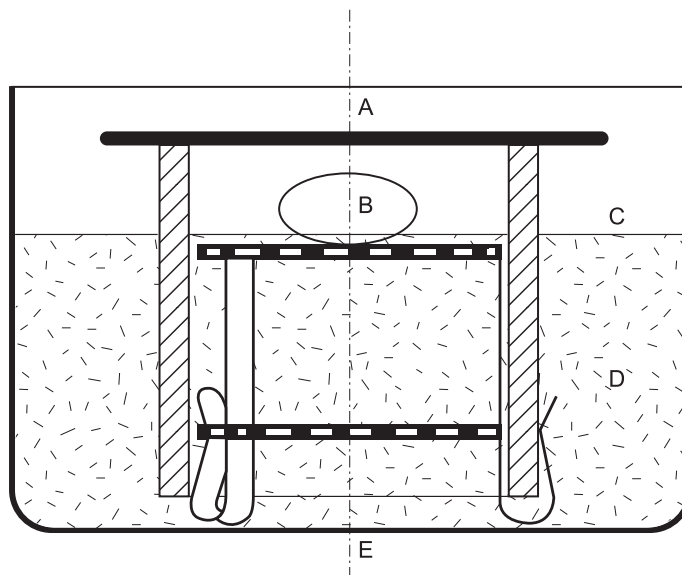
Metoda. Za test koristiti tri supozitorije ili vagitorije. Staviti svaku na donji disk uređaja, prenijeti u cijev za ispitivanje i pričvrstiti. Aparature okrenuti u obrnut položaj svakih 10 min. Pregledati stanje uzoraka nakon isteka vremena propisanog u monografiji. Da bi test prošao, svi uzorci se moraju raspasti.



*Slika 2.9.2.-1. Aparatura za ispitivanje raspadljivosti supozitorija i vagitorija
Dimenzije u milimetrima*

POSTUPAK ZA VAGINALNE TABLETE

Koristiti gore opisanu aparaturu, postavljenu tako da stoji na spojnicama (vidi sliku 2.9.2-2). Postaviti je u posudu odgovarajućeg prečnika sa vodom održavajući 36–37 °C tako da nivo vode bude tik ispod gornjeg perforiranog diska. Koristeći pipetu podesiti nivo vodom zagrijanom na 36–37 °C na način da uniformni film pokrije perforacije diska. Koristiti tri vaginalne tablete. Postaviti svaku na gornju ploču aparature, zatim poklopiti staklenom pločom da bi se za vrijeme ispitivanja održala odgovarajuća vlažnost. Stanje uzoraka se provjerava poslije isteka vremena propisanog u monografiji. Da bi test prošao, svi uzorci se moraju raspasti u predviđenom vremenu.



Slika 2.9.2.-2.

- | | |
|----------------------|-----------|
| A. staklena ploča | D. voda |
| B. vaginalna tableta | E. posuda |
| C. površina vode | |

2.9.3. ISPITIVANJE BRZINE OSLOBAĐANJA ZA ČVRSTE FARMACEUTSKE OBLIKE (DISSOLUTION TEST)

01/2016:20903

Ovo ispitivanje omogućava utvrđivanje usaglašenosti sa zahtjevima brzine oslobađanja za čvrste farmaceutske oblike koji se primjenjuju oralno. U ovom poglavlju, dozna jedinica definisana je kao jedna tableta ili jedna kapsula ili specificirana količina.

UREĐAJ

Aparatura 1 (Aparatura sa korpicama). Konstrukcija se sastoji od sljedećih dijelova: posude koja može biti pokrivena, izrađene od stakla ili drugog inertnog, providnog materijala³; motora; pogonske osovine i cilindrične korpice (rotirajući dio). Posuda je djelimično uronjena u odgovarajuće vodeno kupatilo pogodne veličine ili je zagrijana pomoću odgovarajućeg uređaja poput plašta za zagrijavanje. Vodeno kupatilo ili uređaj za grijanje omogućava održavanje temperature unutar posude tokom ispitivanja na $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ te održava medijum za oslobađanje u stalnom, ujednačenom kretanju. Ni jedan dio konstrukcije, uključujući i okruženje u kojemu se konstrukcija nalazi, ne doprinosi značajnije kretanju, mućkanju ili vibracijama, osim mirnog okretanja rotira-

³ Materijali ne smiju rastvarati, reagovati ili interferirati sa testiranom pripremom.

jućeg elementa. Prednost ima uređaj u kojem je moguće posmatrati preparat i miješanje tokom sprovođenja ispitivanja. Posuda je cilindričnog oblika, sa polukružnim dnom i zapreminom od 1 L. Visine je 160–210 mm, unutrašnjeg promjera 98–106 mm. Bočne strane su sa obodom na vrhu. Pogodan poklopac se može koristiti u svrhu usporavanja isparavanja.⁴ Osovina je postavljena tako da je njena osa u svakom trenutku udaljena najviše 2 mm od bilo koje tačke okomite osi posude i okreće se mirno, bez značajnijeg odstupanja u okretanju koje bi moglo uticati na rezultate. Koristi se uređaj koji kontrolise i omogućava odabir brzine okretanja te njeno održavanje na određenoj vrijednosti, unutar $\pm 4\%$.

Osovina i korpice rotirajućeg dijela izrađene su od nehrđajućeg čelika vrste 316 ili ekvivalentne prema zahtjevima prikazanima na Slici 2.9.3.-1.

Može se koristiti i korpica sa zlatnim premazom, debljine oko 2,5 μm (0,0001 inča). Na početku svakog ispitivanja dozna jedinica stavlja se u suhu korpicu. Udaljenost između unutrašnjeg dna posude i donjeg dijela korpice tokom ispitivanja održava se na 25 ± 2 mm.

Aparatura 2 (Aparatura sa lopaticama). Koristiti konstrukciju opisanu kod aparature 1, osim što se kao rotirajući element koristi lopatica formirana od lopatice i osovine. Osa osovine lopatice postavljena je tako da se u bilo kojem trenutku nalazi unutar 2 mm od okomite ose posude i okreće se mirno, bez značajnije promjene okretanja koja bi mogla uticati na rezultate. Okomita srednja linija lopatice prolazi kroz osu osovine tako da je donji dio lopatice u ravni sa donjim dijelom osovine. Lopatica odgovara zahtjevima prikazanima na Slici 2.9.3.-2. Donji dio lopatice udaljen je 25 ± 2 mm od unutrašnjeg dna posude tokom ispitivanja. Lopatica je izrađena od metala ili od nekog inertnog materijala i zajedno sa osovinom čini jednu cjelinu. Može se koristiti i odgovarajući dizajn koji omogućuje odvajanje lopatice od osovine pod uslovom da konstrukcija ostaje dobro učvršćena tokom ispitivanja. Lopatica i osovina mogu biti obloženi odgovarajućim inertnim slojem. Dozna jedinica se spusti da potone na dno posude prije početka okretanja lopatica. Ako bi dozna jedinica plutala u medijumu, na nju se može labavo pričvrstiti odgovarajući mali komad izrađen od inertnog materijala, na primjer najviše nekoliko navoja žice. Alternativni uređaj za potapanje (*sinker*) prikazan je na Slici 2.9.3.-3. Mogu se koristiti i drugi, validirani uređaji za potapanje.

Aparatura 3 (Oscilirajući cilindar). Uređaj se sastoji od niza cilindričnih staklenih posuda ravnog dna, niza staklenih oscilirajućih cilindara, inertnih dijelova (nehrđajući čelik tipa 316 ili drugi odgovarajući materijal) i zaslona izrađenih od odgovarajućeg neapsorbirajućeg i inertnog materijala, a koji su dizajnirani tako da se uklapaju na vrh i dno oscilirajućih cilindara te od konstrukcije za motorni pogon koji pokreće cilindre okomito unutar posuda, a ako je potrebno, usmjerava oscilirajuće cilindre vodoravno na drugi red posuda. Posude su djelimično uronjene u odgovarajuće vodeno kupatilo odgovarajuće veličine koje tokom ispitivanja omogućava održavanje temperature na $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Ni jedan dio uređaja, uključujući i okruženje u kojem se nalazi, ne doprinosi značajnije kretanju, mućkanju ili vibracijama, osim mirnog, okomitog osciliranja cilindra. Aparatura koristi konstrukciju koja omogućava odabir brzine oscilovanja i održavanja određene brzine uranjanja, unutar $\pm 5\%$. Prednost ima aparatura u kojoj je moguće posmatrati preparat i oscilujuće cilindre. Posude su opremljene poklopcem koji sprečava isparavanje i koji ostaje na postavljenom položaju tokom trajanja testa. Dijelovi aparature odgovaraju mjerama koje su prikazane na Slici 2.9.3.-4, osim ako nije drugačije propisano.

Aparatura 4 (Protočna ćelija). Uređaj se sastoji od spremnika i pumpe za medijum za oslobađanje, protočne ćelije, vodenog kupatila koje održava temperaturu medijuma za oslobađanje na $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Koristi se ćelija propisane veličine.

Pumpa potiskuje medijum za oslobađanje prema gore kroz protočnu ćeliju. Pumpa ima mogućnost uspostavljanja protoka u rasponu između 240 mL/h i 960 mL/h, sa uobičajenim protocima od 4 mL/min, 8 mL/min, i 16 mL/min. Mora se uspostaviti stalni protok ($\pm 5\%$ od nominalnog protoka); profil protoka je sinusoidalna sa pulsacijom od 120 ± 10 pulseva/min. Takođe se može koristiti i pumpa koja nema mogućnost pulsiranja. Procedure ispitivanja brzine oslobađanja pomoću protočne ćelije moraju imati definisan protok i pulsaciju.

Protočna ćelija (vidjeti slike 2.9.3.-5. i 2.9.3.-6) napravljena je od providnog i inertnog materijala i postavljena

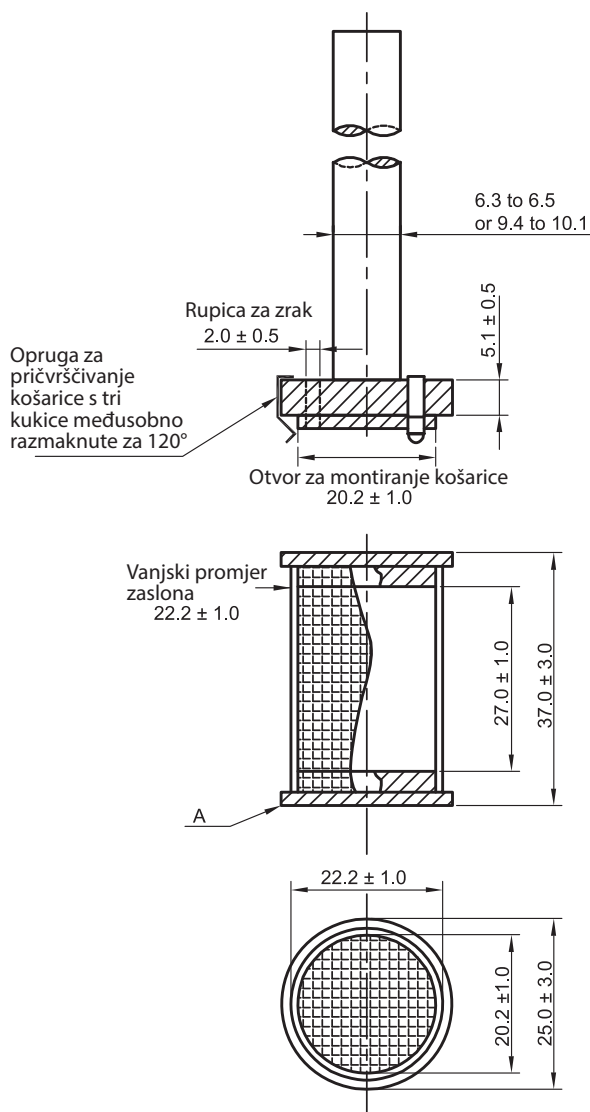
⁴ Ako se koristi poklopac, potrebno je obezbijediti dovoljno otvora da se omogući provlačenje termometra i uzorkovanje iz posude.

uspravno, sa sistemom filtera koji sprečava izlazak nerastvornih čestica kroz vrh ćelije. Uobičajeni promjer ćelije je 12 mm ili 22,6 mm; donji je konus obično ispunjen malim staklenim zrnima promjera oko 1 mm, od kojih je jedno zrnce promjera približno 5 mm postavljeno na vrhu tako da štiti cjevčicu od ulaza tekućine. Za namještanje posebnih doznih oblika dostupan je držač tablete (vidjeti slike 2.9.3.-5. i 2.9.3.-6). Ćelija je uronjena u vodeno kupatilo, u kojem se temperatura održava na $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Aparatura koristi mehanizam stezanja te dva O-prstena za učvršćivanje konstrukcije ćelije. Pumpa je odvojena od jedinice za oslobađanje kako bi jedinica bila zaštićena od vibracija koje potiču od pumpe. Pumpa ne smije biti postavljena iznad nivoa spremnika. Spojnice cjevčica su što je moguće kraće. Koriste se inertne cjevčice, poput politetrafluoroetilenske, unutrašnjeg promjera 1,6 mm sa inertnim krajevima prilagođenima za učvršćivanje spojeva.

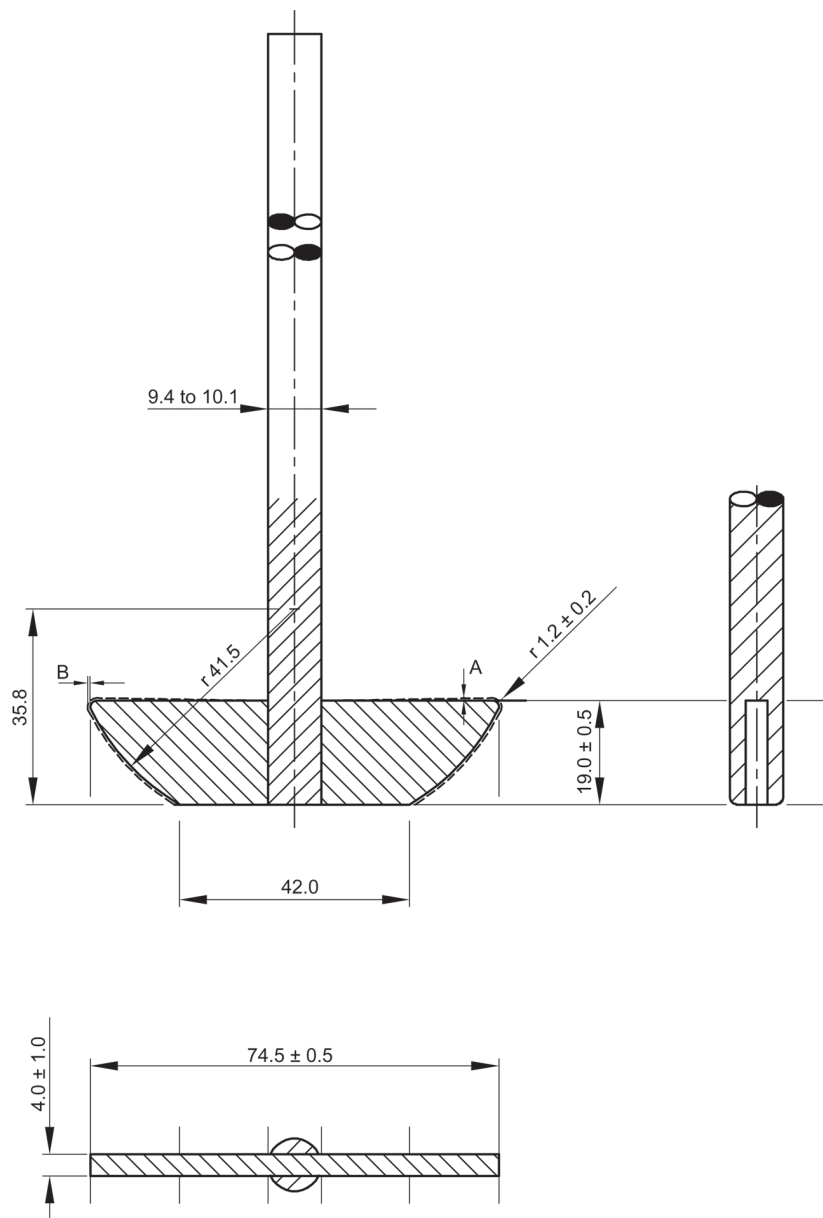
Pogodnost aparature. Utvrđivanje pogodnosti aparature za sprovođenje testiranja oslobađanja mora uključivati usklađenost s dimenzijama i toleranciju aparature kako je gore navedeno. Osim toga, kritični parametri testiranja koji se moraju pratiti periodično tokom upotrebe uključuju volumen i temperaturu medijuma za oslobađanje, brzinu okretanja (aparatura 1 i 2), brzinu uranjanja (aparatura 3) i protok medijuma (aparatura 4).

Prihvatljivost performansi uređaja za ispitivanje brzine oslobađanja se provjerava periodično.



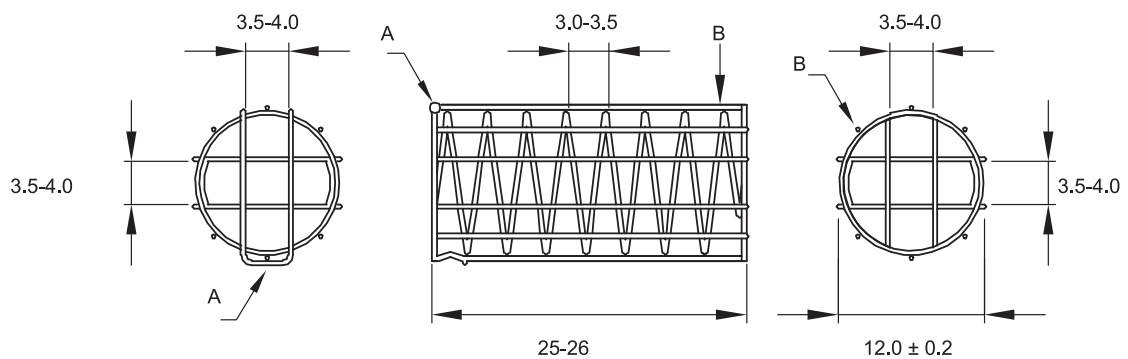
- 1) Zaslon sa zavarenim šavom; promjer žice 0,22–0,31 mm sa mrežnim otvorima veličine 0,36–0,44 mm. Nakon zavarivanja zaslon može biti malo promijenjen.
- 2) Najveće dozvoljeno odstupanje dijela korpice označenog sa „A“ tokom okretanja oko središnje ose montirane korpice iznosi 1,0 mm.

Slika 2.9.3.-1. Aparatura 1, rotirajući dio sa korpicom



Dimenzije A i B se ne razlikuju više od 0,5 mm tokom rotacije prikazanog dijela uređaja oko središnje ose. Ako nije drugačije naznačeno, odstupanja iznose ± 1,0 mm.

Slika 2.9.3.-2. Aparatura 2, rotirajući dio sa lopaticom



A: žičana kopča otporna na kiseline B: žičani držač otporan na kiseline

Slika 3 2.9.3.-3. Alternativna naprava za potapanje (engl. „sinker“)

Prihvatljivost performansi opreme za ispitivanje oslobađanja utvrđuje se periodično.

PROCEDURA

APARATURA 1 I 2

Čvrsti farmaceutski oblici sa trenutnim oslobađanjem

Postupak. U posudu specificirane aparature dodati naznačenu zapreminu disolucionog medijuma ($\pm 1\%$).

Montirati dijelove aparature, temperaturu disolucionog medijuma uravnotežiti na $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$, i ukloniti termometar. Ispitivanje se može sprovoditi termometrom uronjenim u medijum pod uslovom da se pokaže da su rezultati jednaki onima koji su dobijeni bez uronjenog termometra.

U aparaturu staviti jednu doznu jedinicu, pazeći pritom da se ne stvore mjehurići na površini ispitivane dozne jedinice. Pokrenuti aparaturu sa prethodno postavljenim zadanim parametrima. U navedenom vremenskom periodu ili pri svakom propisanom vremenu, uzorkovanje vršiti iz područja koje se nalazi na polovini puta između površine disolucionog medijuma i vrha rotirajuće korpice ili lopatice, najmanje 1 cm od stijenke posude. Kad je uzimanje uzorka propisano u više vremenskih intervala, alikvote uzete za analizu nadoknaditi jednakom količinom svježeg disolucionog medijuma temperature 37°C ili, u slučaju kad je moguće dokazati da nije potrebno nadoknađivanje medijuma, promjenu zapremine korigovati prilikom proračuna. Držati posude poklopljene tokom sprovođenja ispitivanja, a temperaturu medijuma provjeriti u pogodnim vremenskim intervalima. Sadržaj aktivne supstance odrediti odgovarajućom metodom.⁵ Ispitivanje ponoviti na dodatnim doznim jedinicama.

Ako se za uzorkovanje koristi automatizovana oprema ili je aparatura izmijenjena na neki drugi način, potrebna je potvrda da je izmijenjena aparatura u mogućnosti dati rezultate jednake onima koji se dobijaju na aparaturi opisanoj u ovom poglavlju, ako je neophodno.

Disolucioni medijum. Koristiti odgovarajući medijum za oslobađanje. Specificirana zapremina se obezbjeđuje mjerenjem na temperaturi između 20 i 25°C . Ako se kao medijum za oslobađanje koristi puferski rastvor, pH vrijednost podesiti unutar $\pm 0,05$ jedinica od navedene vrijednosti. Rastvoreni gasovi mogu uzrokovati pojavu mjehurića, što može promijeniti rezultate ispitivanja. U takvim je slučajevima prije ispitivanja potrebno ukloniti rastvorene gasove.⁶

Vrijeme. Kad je propisano jednokratno uzimanja uzorka, ispitivanje se može završiti u kraćem vremenu, ako je zadovoljen zahtjev za minimalnu oslobođenu količinu. Uzorci se trebaju uzimati samo u navedenim vremenima, uz dozvoljeno odstupanje od $\pm 2\%$.

Čvrsti farmaceutski oblici sa produženim oslobađanjem

Postupak. Postupiti kako je opisano za čvrste farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem.

Disolucioni medijum. Postupiti kako je opisano za čvrste farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem.

Vrijeme. Vremenske tačke ispitivanja, obično tri, izražene su u satima.

Čvrsti farmaceutski oblici sa odloženim oslobađanjem

Postupak. Primijeniti Metodu A ili Metodu B.

METODA A

- *Kisela faza.* U posudu staviti 750 mL $0,1$ M hlorovodonične kiseline i sastaviti aparaturu. Medijum zagrijati na temperaturu od $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. U uređaj staviti jednu doznu jedinicu, posudu pokriti i pokrenuti uređaj na propisanu brzinu obrtaja. Nakon dva sata oslobađanja u $0,1$ M hlorovodoničnoj kiselini, izvući alikvot tečnosti i odmah nastaviti postupak kako je propisano u dijelu Puferska faza. Odgovarajućom metodom za određivanje sadržaja sprovesti analizu alikvota.

⁵ Testni uzorci se filtriraju odmah nakon uzorkovanja, osim ako se pokaže da je filtracija nepotrebna. Koristiti inertni filter koji ne izaziva adsorpciju aktivne supstance ili sadrži supstance koje se mogu ekstrahovati i interferirati sa analizom.

⁶ Metoda deaeracije je sljedeća: zagrijati medijum uz lagano miješanje na oko 41°C , odmah filtrirati pod vakuumom koristeći filter sa poroznošću od $0,45 \mu\text{m}$ ili manje, uz snažno miješanje pod vakuumom od oko 5 minuta. Mogu se koristiti i druge validirane metode deaeracije za uklanjanje rastvorenih gasova.

- *Puferska faza.* Postupak dodavanja pufera i podešavanja pH potrebno je završiti unutar pet minuta. U uređaj koji radi na podešenoj brzini, u tečnost u posudi dodati 250 mL 0,20 M rastvora *natrijum fosfata dodekahidrata R* kojem je temperatura prethodno podešena na $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Ako je potrebno, pH vrijednost podesiti na $6,8 \pm 0,05$ pomoću 2 M *hlorovodonične kiseline R* ili 2 M *natrijum hidroksida R*. Oslobođanje nastaviti sljedećih 45 minuta ili tokom propisanog vremena. Na kraju propisanog vremena, izvući alikvot tečnosti i odgovarajućom metodom za određivanje sadržaja analizirati alikvot.

METODA B

- *Kisela faza.* U posudu staviti 1000 mL 0,1 M *hlorovodonične kiseline* i sastaviti aparaturu. Medijum zagrijati na temperaturu od $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. U uređaj staviti jednu doznu jedinicu, posudu pokriti i pokrenuti uređaj na propisanoj brzini obrtaja. Nakon dva sata oslobođanja u 0,1 M *hlorovodoničnoj kiselini*, izvući alikvot tečnosti i odmah nastaviti postupak kako je propisano u dijelu Puferska faza. Odgovarajućom metodom za određivanje sadržaja analizirati alikvot.
- *Puferska faza.* Za ovu fazu postupka koristiti pufer koji je prethodno zagrijan na temperaturu $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Kiselinu dekantirati iz posude i dodati 1000 mL fosfatnog pufera pH 6,8 koji je pripremljen miješanjem tri zapremine dijela 0,1 M *hlorovodonične kiseline* sa jednim zapreminskim dijelom 0,20 M rastvora *natrijum fosfata dodekahidrata R*. Ako je potrebno, pH vrijednost podesiti na $6,8 \pm 0,05$ pomoću 2 M *hlorovodonične kiseline R* ili 2 M *natrijum hidroksida R*. Takođe, navedeno je moguće sprovesti na način da se sa aparature ukloni posuda koja sadrži kiselinu te se zamijeni drugom posudom koja sadrži pufer, a dozna se jedinica premjesti u posudu sa puferom. Oslobođanje nastaviti sljedećih 45 minuta ili tokom propisanog vremena. Na kraju propisanog vremena, izvući alikvot tečnosti i odgovarajućom metodom za određivanje sadržaja analizirati alikvot.

Vrijeme. Ako nije drugačije navedeno, za sva navedena vremena ispitivanja dopušteno je odstupanje od $\pm 2\%$.

APARATURA 3

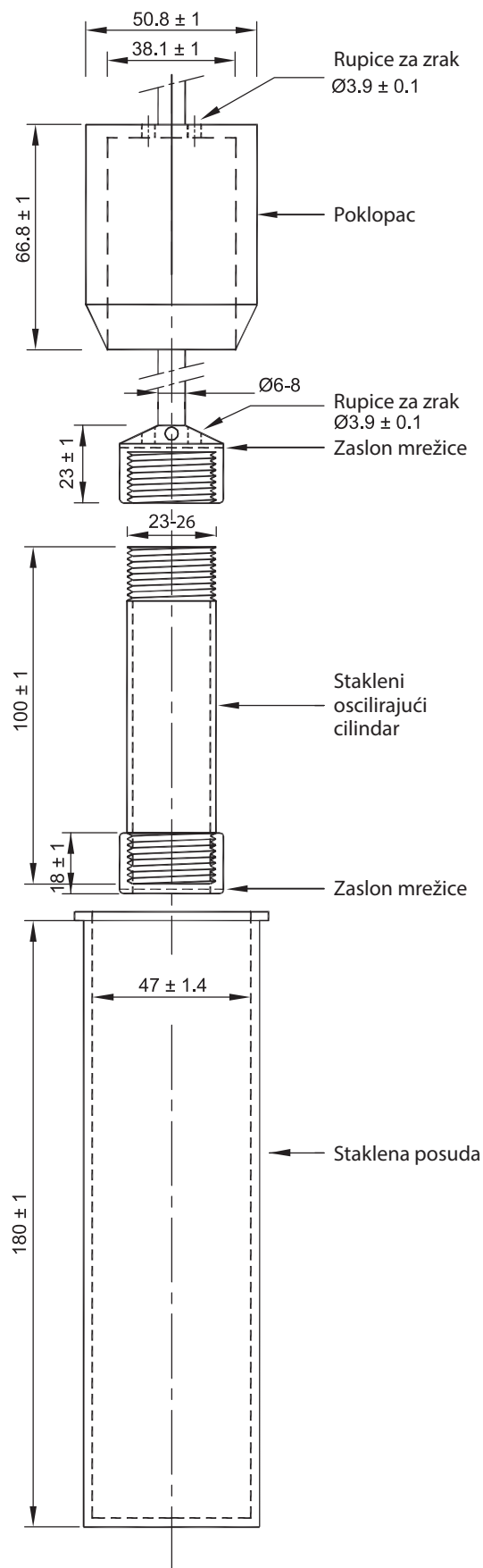
Farmaceutski oblici sa trenutnim oslobođanjem

Postupak. U svaku posudu aparature dodati navedenu zapreminu disolucionog medijuma ($\pm 1\%$). Sastaviti aparaturu, temperaturu medijuma za oslobođanje uravnotežiti na $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$, zatim ukloniti termometar. Po jednu doznu jedinicu staviti u svaki oscilirajući cilindar, pazeći pritom da se ne stvore mjehurići vazduha na površini dozne jedinice. Odmah zatim, pokrenuti uređaj kako je propisano. Za vrijeme pomicanja gore i dolje, oscilirajući cilindar prelazi ukupnu udaljenost 9,9–10,1 cm. U navedenom vremenskom intervalu, ili u svakom navedenom vremenu, treba podignuti oscilirajuće cilindre i iz svake posude izvući određenu zapreminu medijuma iz područja koje se nalazi u središnjem dijelu između površine disolucionog medijuma i dna posude. Sprovesti analizu kako je propisano. Ako je potrebno, ispitivanje ponoviti na dodatnim doznim jedinicama.

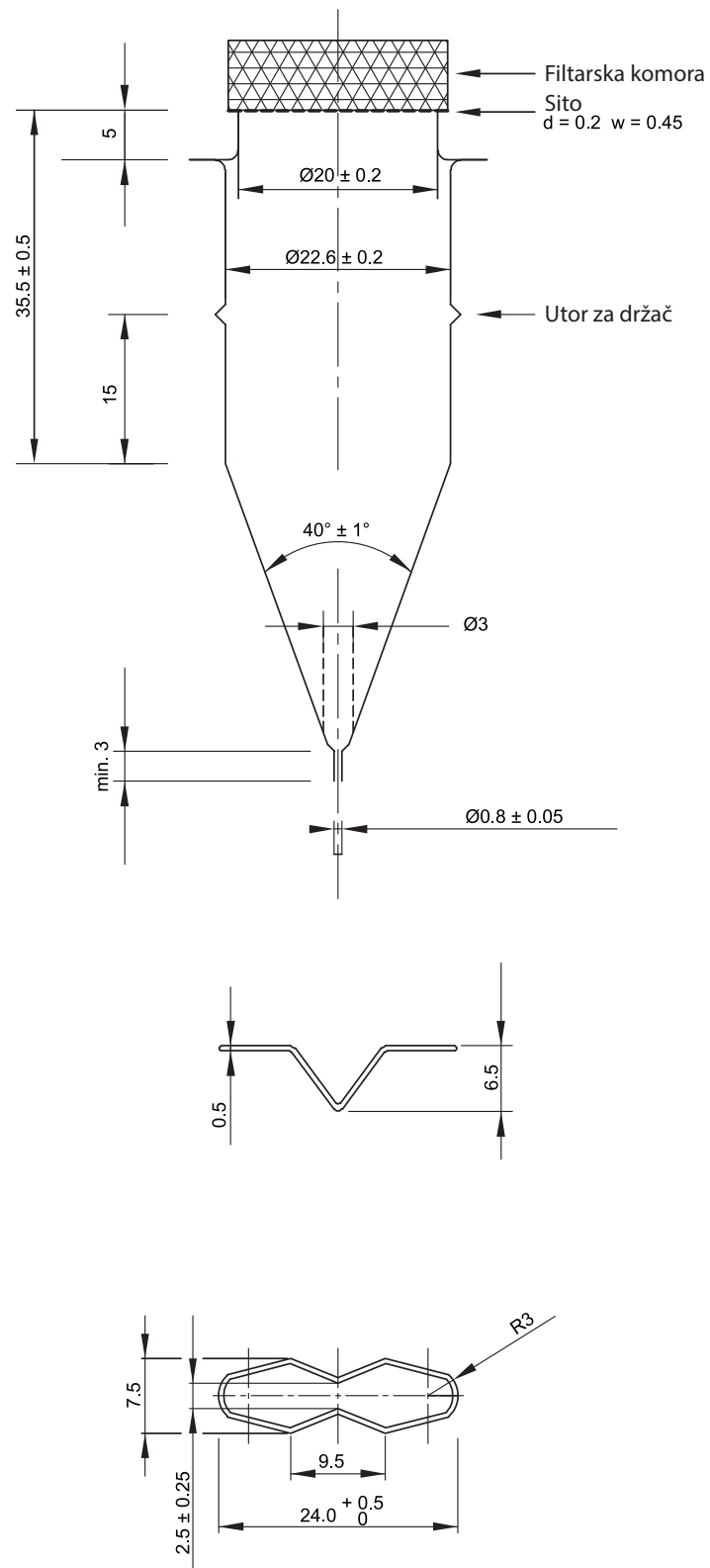
Alikvot uzet za analizu nadoknaditi jednakom količinom svježeg medijuma za oslobođanje temperature 37°C ili, u slučaju kad je moguće dokazati da nije potrebno nadoknađivanje medijuma, promjenu zapremine korigovati prilikom proračuna. Posude ostaviti poklopljene tokom sprovođenja ispitivanja, a temperaturu medijuma provjeriti u odgovarajućim vremenskim intervalima.

Medijum za oslobođanje. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa trenutnim oslobođanjem u poglavlju Aparatura 1 i 2.

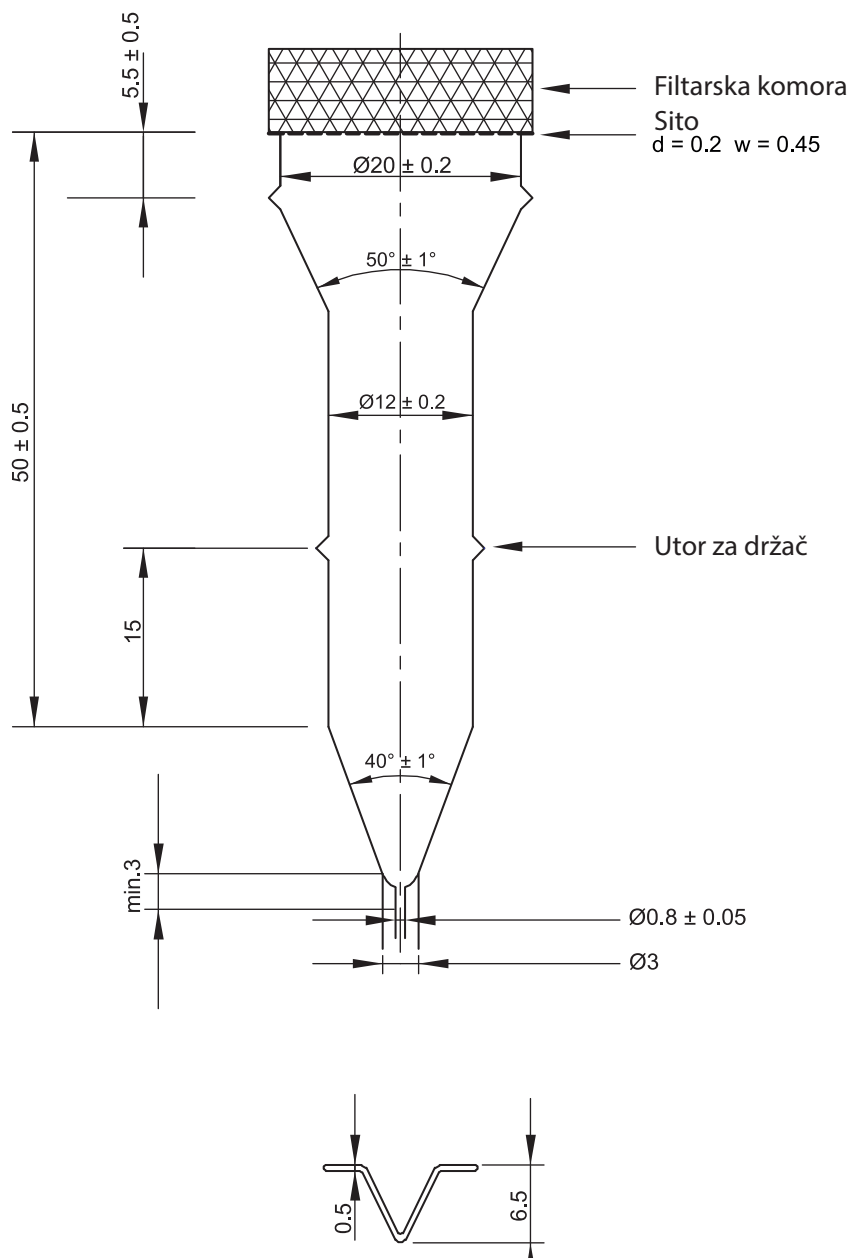
Vrijeme. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa trenutnim oslobođanjem, Aparatura 1 i 2.



Slika 2.9.3.-4. Aparatura 3, staklena posuda i oscilirajući cilindar
Dimenzije u milimetrima



Slika 2.9.3.-5. Aparatura 4, velika ćelija za tablete i kapsule (vrh), držač za tablete za veliku ćeliju (dno)
Dimenzije u milimetrima, ako nije drugačije navedeno



Slika 2.9.3.-6. Aparatura 4, mala ćelija za tablete i kapsule (vrh), držač za tablete za malu ćeliju (dno)
Dimenzije u milimetrima, ako nije drugačije navedeno

Farmaceutski oblici sa produženim oslobađanjem

Postupak. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem, Aparatura 3.

Disolucioni medijum. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa produženim oslobađanjem, Aparatura 1 i 2.

Vrijeme. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa produženim oslobađanjem, Aparatura 1 i 2.

Farmaceutski oblici sa odloženim oslobađanjem

Postupak. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa odloženim oslobađanjem, Metoda B, Aparatura 1 i 2, koristeći jedan red posuda za medijum kisele faze, a sljedeći red posuda za medijum puferske faze. Upotrijebiti navedenu zapreminu medijuma (obično 300 mL).

Vrijeme. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa odloženim oslobađanjem, Aparatura 1 i 2.

APARATURA 4

Farmaceutski oblici sa trenutnim oslobađanjem

Postupak. Staklene kuglice staviti u navedenu ćeliju. Staviti jednu doznu jedinicu na vrh perli ili, ako je navedeno, na žičani nosač. Sastaviti glavu filtra i zajedno spojiti dijelove pomoću odgovarajuće sprave za stezanje. Kroz dno ćelije pomoću pumpe uvoditi disolucioni medijum prethodno zagrijan na temperaturu od $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ da se uspostavi propisani protok koji se mjeri sa tačnošću od 5%. U svakom navedenom vremenskom intervalu sakupljaju se frakcije eluata. Sprovesti analizu kako je propisano. Ispitivanje ponoviti na dodatnim doznim jedinicama.

Disolucioni medijum. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem, Aparatura 1 i 2.

Vrijeme. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem, Aparatura 1 i 2.

Farmaceutski oblici sa produženim oslobađanjem

Postupak. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem, Aparatura 4.

Disolucioni medijum. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem, Aparatura 4.

Vrijeme. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa trenutnim oslobađanjem, Aparatura 4.

Farmaceutski oblici sa odloženim oslobađanjem

Postupak. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa odloženim oslobađanjem, Aparatura 1 i 2, koristeći navedeni medijum.

Vrijeme. Postupiti kako je opisano za farmaceutske oblike sa odloženim oslobađanjem, Aparatura 1 i 2.

TUMAČENJE

Farmaceutski oblici sa trenutnim oslobađanjem

Ako nije drugačije navedeno, zahtjevi su zadovoljeni ako količine aktivne supstance oslobođene iz ispitivanih doznih jedinica zadovoljavaju kriterijume navedene u Tabeli 2.9.3.-1. Ako rezultati ne odgovaraju ili nivou S_1 ili nivou S_2 , nastaviti ispitivanje kroz tri nivoa. Vrijednost Q predstavlja propisanu količinu oslobođene aktivne supstance, izraženu kao procenat deklarisanog sadržaja; vrijednosti 5%, 15% i 25% iz tabele predstavljaju procenat deklarisanog sadržaja, tako da su te vrijednosti i vrijednost Q izražene na isti način.

Tabela 2.9.3.-1.

Nivo	Broj ispitivanih jedinica	Kriterijum prihvatljivosti
S1	6	Oslobađanje svake jedinice iznosi najmanje $Q + 5\%$
S2	6	Prosječno oslobađanje 12 jedinica ($S1 + S2$) iznosi najmanje Q i oslobađanje svake jedinice iznosi najmanje $Q - 15\%$
S3	12	Prosječno oslobađanje 24 jedinice ($S1 + S2 + S3$) iznosi najmanje Q, oslobađanje najviše 2 jedinice iznosi manje od $Q - 15\%$ i oslobađanje svake jedinice iznosi najmanje $Q - 25\%$

Farmaceutski oblici sa produženim oslobađanjem

Ako nije drugačije navedeno, zahtjevi su zadovoljeni ako oslobođene količine aktivne supstance iz ispitivanih doznih jedinica zadovoljavaju kriterijume navedene u Tabeli 2.9.3.-2. Ako rezultati ne odgovaraju ili nivou L_1 ili nivou L_2 , nastaviti ispitivanje kroz tri nivoa. Limiti količine oslobođene aktivne supstance izraženi su u procentu deklarisanog sadržaja. Limiti obuhvataju svaku od vrijednosti Q_i , oslobođenu količinu na svakom specifičnom fracionom intervalu doziranja. Kad je propisano više od jednog raspona, kriterijum prihvatljivosti primjenjuje se pojedinačno na svaki raspon.

Tabela 2.9.3.-2.

Nivo	Broj ispitivanih jedinica	Kriterijum prihvatljivosti
L ₁	6	Nijedna pojedinačna vrijednost ne nalazi se izvan bilo kojeg od navedenih raspona i nijedna pojedinačna vrijednost nije manja od navedene vrijednosti u završnom vremenu ispitivanja.
L ₂	6	Prosječna vrijednost 12 jedinica (L ₁ + L ₂) nalazi se u okviru svakog od navedenih raspona i nije manja od navedene vrijednosti u završnom vremenu ispitivanja. Nijedna vrijednost ne odstupa više od 10% od deklarisanog sadržaja izvan svakog od navedenih raspona i nijedna vrijednost ne odstupa više od 10% od deklarisanog sadržaja ispod navedene količine u završnom vremenu ispitivanja.
L ₃	12	Prosječna vrijednost 24 jedinice (L ₁ + L ₂ + L ₃) nalazi se unutar svakog od navedenih raspona i nije manja od navedene vrijednosti u završnom vremenu ispitivanja. Najviše dvije od 24 jedinice odstupaju više od 10% od deklarisanog sadržaja izvan granica svakog od navedenih limita. Najviše dvije od 24 jedinice odstupaju više od 10% od deklariranog sadržaja ispod navedene količine u završnom vremenu ispitivanja. Nijedna jedinica ne odstupa više od 20% od deklarisanog sadržaja izvan svakog od navedenih raspona ili više od 20% od deklarisanog sadržaja ispod navedene količine u završnom vremenu ispitivanja.

Farmaceutski oblici sa odloženim oslobađanjem

Kisela faza. Ako nije drugačije navedeno, zahtjevi za ovaj dio ispitivanja zadovoljeni su ako oslobođene količine aktivne supstance iz ispitivanih doznih jedinica, bazirane na procentu deklarisanog sadržaja, zadovoljavaju kriterijume navedene u Tabeli 2.9.3.-3. Ako rezultati u bilo kojoj od faza, kiseloj i puferskoj, ne odgovaraju zahtjevima prethodnog nivoa, nastaviti ispitivanje kroz sva tri nivoa.

Puferska faza. Ako nije drugačije navedeno, zahtjevi su zadovoljeni ako su oslobođene količine aktivne supstance iz ispitivanih doznih jedinica u skladu sa kriterijumima navedenim u Tabeli 2.9.3.-4. Ako rezultati u bilo kojoj od faza, kiseloj i puferskoj, ne odgovaraju zahtjevima prethodnog nivoa, nastaviti ispitivanje kroz sva tri nivoa. Ako nije drugačije navedeno, vrijednost Q u Tabeli 2.9.3.-4. iznosi 75% oslobođene supstance. Vrijednost Q predstavlja propisanu količinu oslobođene aktivne supstance u obje faze, kiseloj i puferskoj, izraženu kao procenat deklarisanog sadržaja; vrijednosti 5%, 15% i 25% iz tabele predstavljaju procenat deklarisanog sadržaja, tako da su te vrijednosti i vrijednost Q izražene na isti način.

Tabela 2.9.3.-3.

Nivo	Broj ispitivanih jedinica	Kriterijum prihvatljivosti
A ₁	6	Nijedna pojedinačna vrijednost oslobađanja ne prelazi 10%
A ₂	6	Prosječna vrijednost oslobađanja 12 jedinica (A ₁ + A ₂) iznosi najviše 10% i nijedna pojedinačna jedinica nema vrijednost oslobađanja veću od 25%
A ₃	12	Prosječna vrijednost oslobađanja od 24 jedinice (A ₁ + A ₂ + A ₃) iznosi najviše 10% i nijedna pojedinačna jedinica nema vrijednost oslobađanja veću od 25%

Tabela 2.9.3.-4.

Nivo	Broj ispitivanih jedinica	Kriterijum prihvatljivosti
B ₁	6	Oslobađanje svake jedinice iznosi najmanje Q + 5%
B ₂	6	Prosječno oslobađanje 12 jedinica (S ₁ + S ₂) iznosi najmanje Q i oslobađanje svake jedinice iznosi najmanje Q – 15%
B ₃	12	Prosječno oslobađanje 24 jedinice (S ₁ + S ₂ + S ₃) iznosi najmanje Q, oslobađanje najviše 2 jedinice iznosi manje od Q – 15% i oslobađanje svake jedinice iznosi najmanje Q – 25%

Preporuke za ispitivanje oslobađanja aktivne supstance navedene su u opštem poglavlju 5.17.1. Preporuke za ispitivanje brzine oslobađanja.

2.9.40. UJEDNAČENOST DOZNIH JEDINICA

04/2017:20940

Kako bi se obezbijedila ujednačenost doznih jedinica, svaka jedinica iz proizvodne serije mora imati sadržaj aktivne supstance unutar uskog područja oko deklarisanе vrijednosti. Dozne jedinice definisane su kao farmaceutski oblici koji sadrže jednu dozu ili dio doze aktivne supstance u svakoj doznoj jedinici. Ako nije drugačije navedeno, zahtjev za određivanje ujednačenosti doznih jedinica ne primjenjuje se na rastvore, suspenzije, emulzije ili gelove u jednodoznim kontejnerima namijenjene za lokalno djelovanje nakon nanošenja na kožu. Ispitivanje ujednačenosti sadržaja ne zahtijeva se za multivitaminske, pojedinačne vitaminske i preparate sa elementima u tragovima.

Izraz „ujednačenost doznih jedinica“ definisan je kao stepen ujednačenosti količine aktivne supstance među doznim jedinicama. Iz tog razloga zahtjevi se iz ovoga poglavlja primjenjuju na svaku aktivnu supstancu u doznim jedinicama sa jednom ili više aktivnih supstanci, ako nije drugačije propisano negdje drugo u ovoj farmakopeji.

Ujednačenost doznih jedinica može se demonstrirati jednom od dvije metode: ujednačenost sadržaja (US) ili variranje mase (VM) (vidjeti Tabelu 2.9.40.-1).

Ispitivanje ujednačenosti sadržaja preparata koji dolaze u obliku doznih jedinica temelji se na ispitivanju pojedinačnih sadržaja aktivne(ih) supstance(i) na određenom broju doznih jedinica, kako bi se utvrdilo nalaze li se pojedinačni sadržaji unutar postavljenih limita. Metoda za određivanje ujednačenosti sadržaja može se primijeniti u svim slučajevima.

Ispitivanje variranja mase primjenljivo je kod sljedećih farmaceutskih oblika:

- 1) rastvori zatvoreni u jednodozne kontejnere i u meke kapsule;
- 2) čvrsti oblici (uključujući praškove, granule i sterilne čvrste oblike) koji su pakovani u jednodoznim kontejnerima i ne sadrže aktivne ili neaktivne supstance;
- 3) čvrsti oblici (uključujući sterilne čvrste oblike) koji su pakovani u jednodoznim kontejnerima, sa ili bez aktivnih ili neaktivnih supstanci koje su pripremljene od pravih rastvora i liofilizirane u finalnim kontejnerima, te označeni na način da je navedena metoda pripreme;
- 4) tvrde kapsule, neobložene tablete ili filmom obložene tablete koje sadržavaju 25 mg ili više aktivne supstance i maseni udio aktivne supstance u doznoj jedinici ili, u slučaju tvrdih kapsula, u sadržaju kapsule iznosi najmanje 25%. Ako su u doznoj jedinici prisutne druge aktivne supstance u manjim količinama i udjelima od gore navedenih, njihova ujednačenost je dokazana zadovoljavanjem zahtjeva za ujednačenost sadržaja.

Ispitivanje ujednačenosti sadržaja zahtijeva se za sve farmaceutske oblike koji ne zadovoljavaju gore navedene uslove za ispitivanje variranja mase. Alternativno, za proizvode koji ne zadovoljavaju prag od 25 mg/25%, ispitivanje ujednačenosti doznih jedinica može se sprovesti testiranjem variranja mase umjesto ispitivanja ujednačenosti sadržaja pri sljedećim uslovima: relativna standardna devijacija (RSD) koncentracije aktivne supstance u gotovoj doznoj jedinici iznosi najviše 2%, bazirano na podacima dobijenim tokom validacije procesa i razvoja lijeka te ako je takvu izmjenu odobrilo nadležno tijelo. RSD koncentracije je relativna standardna devijacija koncentracije po doznoj jedinici (m/m ili m/V), gdje je koncentracija po doznoj jedinici jednaka rezultatu određivanja sadržaja za pojedinačnu doznu jedinicu podijeljenom sa masom pojedinačne dozne jedinice. Vidjeti formulu za RSD u Tabeli 2.9.40.-2.

Tabela 2.9.40.-1. Primjena ispitivanja ujednačenosti sadržaja (US) i variranja mase (VM) za farmaceutske oblike

Farmaceutski oblik	Vrsta	Podvrsta	Doza i udio aktivne supstance	
			≥ 25 mg i $\geq 25\%$	< 25 mg ili $< 25\%$
tablete	neobložene		VM	US
	obložene	filmom obložene	VM	US
		ostale	US	US
kapsule	tvrde		VM	US
	meke	suspencije, emulzije, gelovi	US	US
		rastvori	VM	VM
čvrsti oblici u jednodoznim kontejnerima	jedna sastavnica		VM	VM
	više sastavnica	rastvori, liofilizirane u finalnom spremniku	VM	VM
		ostali	US	US
rastvori ugrađeni u jednodozne kontejnere			VM	VM
ostali oblici: farmaceutski oblici koji se ne mogu smjestiti u druge kategorije u ovoj tabeli, uključujući, ali ne ograničavajući se samo na supozitorije, transdermalne flastere i polučvrste preparate koji se nanose na kožu, a namijenjeni su za sistemsku raspodjelu aktivne supstance			US	US

Tabela 2.9.40.-2.

Varijabla	Definicija	Uslovi	Vrijednost
\bar{X}	srednja vrijednost pojedinačnih sadržaja (x_1, x_2, \dots, x_n), izražena kao procenat deklarisanog sadržaja		
x_1, x_2, \dots, x_n	pojedinačni sadržaji ispitanih doznih jedinica, izraženi kao procenat deklarisanog sadržaja		
n	veličina uzorka (broj ispitanih doznih jedinica)		
k	konstanta prihvatljivosti	ako je $n = 10$, onda	2,4
		ako je $n = 30$, onda	2,0
s	standardno odstupanje uzorka		$\left[\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n - 1} \right]^{1/2}$
RSD	relativna standardna devijacija		$\frac{100s}{\bar{X}}$
M (slučaj 1) primjenjuje se kad je $T \leq 101,5$	referentna vrijednost	ako je $98,5\% \leq \bar{X} \leq 101,5\%$, onda	$M = \bar{X}$ ($AV = ks$)
		ako je $\bar{X} < 98,5\%$, onda	$M = 98,5\%$ ($AV = 98,5 - \bar{X} + ks$)
		ako je $\bar{X} > 101,5\%$, onda	$M = 101,5\%$ ($AV = \bar{X} - 101,5 + ks$)
M (slučaj 2) primjenjuje se kad je $T > 101,5$	referentna vrijednost	ako je $98,5\% \leq \bar{X} \leq T$, onda	$M = \bar{X}$ ($AV = ks$)
		ako je $\bar{X} < 98,5\%$, onda	$M = 98,5\%$ ($AV = 98,5 - \bar{X} + ks$)

Varijabla	Definicija	Uslovi	Vrijednost
		ako je $\bar{X} > T$, onda	$M = T\%$ ($AV = \bar{X} - T + ks$)
prihvatljiva vrijednost (AV)			Opšta formula: $ M - \bar{X} + ks$ preračuni su gore navedeni za različite slučajeve.
L1	najveća dozvoljena prihvatljiva vrijednost		L1 = 15,0 ako nije drugačije propisano
L2	najveći dozvoljeni interval za odstupanje svake ispitane dozne jedinice dobijen iz izračunate vrijednosti M	nijedan rezultat dozne jedinice nije niži od 0,75 M i nijedan rezultat dozne jedinice nije viši od 1,25 M (bazirano na L2 vrijednosti od 25,0)	L2 = 25,0 ako nije drugačije propisano
T	ciljani sadržaj po doznoj jedinici u vremenu proizvodnje, izražen kao postotak deklarisanog sadržaja. Ako nije drugačije navedeno, T je jednak 100% ili je T ciljani sadržaj po doznoj jedinici koju je odobrio proizvođač		

UJEDNAČENOST SADRŽAJA

Odabrati najmanje 30 jedinica i postupiti kako je navedeno za određeni farmaceutski oblik. Tamo gdje se koriste različiti postupci za određivanje sadržaja preparata i ispitivanje ujednačenosti sadržaja, možda će biti potrebno uspostaviti faktor korekcije koji bi bio primjenjiv na rezultate ujednačenosti sadržaja.

Čvrsti farmaceutski oblici. Pojedinačno ispitati 10 jedinica upotrebom odgovarajuće analitičke metode. Izračunati prihvatljivu vrijednost (vidjeti Tabelu 2.9.40.-2).

Tečni ili polučvrsti farmaceutski oblici. Posebno ispitati 10 pojedinačnih jedinica upotrebom odgovarajuće analitičke metode. Odrediti sadržaj aktivne supstance na količini dobro izmiješanog sadržaja doznog oblika koji je izvađen iz pojedinačnog spremnika u uslovima uobičajene upotrebe. Rezultat izraziti kao isporučenu dozu. Izračunati prihvatljivu vrijednost (vidjeti Tabelu 2.9.40.-2).

Računanje prihvatljive vrijednosti

Izračunati prihvatljivu vrijednost (AV) upotrebom formule:

$$|M - \bar{X}| + ks$$

za koju su uslovi definisani u Tabeli 2.9.40.-2.

VARIRANJE MASE

Odgovarajućom analitičkom metodom odrediti sadržaj aktivne(ih) supstance(i) na reprezentativnom uzorku proizvodne serije. Ta je vrijednost rezultat A, izražen kao procenat deklarisanog sadržaja (vidjeti niže dio Računanje prihvatljive vrijednosti). Pretpostaviti da je koncentracija (masa aktivne supstance po masi dozne jedinice) ujednačena. Odabrati najmanje 30 doznih jedinica i postupiti kako je navedeno za određeni farmaceutski oblik.

Neobložene ili filmom obložene tablete. Odvagati tačno 10 pojedinačnih tableta. Iz mase pojedinačne tablete i rezultata određivanja sadržaja, izračunati sadržaj aktivne supstance pojedinačne dozne jedinice, izražen kao procenat deklarisanog sadržaja. Izračunati prihvatljivu vrijednost.

Tvrde kapsule. Odvagati tačno 10 pojedinačnih kapsula, pritom vodeći računa da se očuva identitet svake kapsule. Na pogodan način ukloniti sadržaj svake kapsule. Tačno izvagati svaku praznu kapsulu pojedinačno pa izračunati za svaku kapsulu masu njenog sadržaja na način da se oduzme masa prazne kapsule od mase pune kapsule. Iz mase sadržaja pojedinačne kapsule i rezultata određivanja sadržaja izračunati sadržaj aktivne supstance u svakoj kapsuli. Izračunati prihvatljivu vrijednost.

Meke kapsule. Odvagati tačno 10 pojedinačnih cijelih kapsula kako bi se dobila njihova bruto masa, pazeći pritom da se sačuva identitet svake kapsule. Nakon toga, kapsule otvoriti zarezivanjem pomoću odgovarajućeg čistog i suhog instrumenta za rezanje poput makaza ili skalpela i ukloniti sadržaj ispiranjem odgovarajućim rastvaračem. Isprane kapsule ostaviti da stoje na sobnoj temperaturi oko 30 minuta kako bi iz njih ispario rastvarač, pazeći pritom da se izbjegne dodatak ili gubitak vlage. Odvagati pojedinačne prazne kapsule i izračunati neto masu sadržaja kapsule. Iz mase sadržaja pojedinačne kapsule i rezultata određivanja sadržaja izračunati sadržaj aktivne supstance u svakoj kapsuli. Izračunati prihvatljivu vrijednost.

Čvrsti farmaceutski oblici, osim tableta i kapsula. Postupiti kako je opisano za tvrde kapsule, tretirajući svaku jedinicu kako je tamo navedeno. Izračunati prihvatljivu vrijednost.

Tečni ili polučvrsti farmaceutski oblici. Tačno odvagati količinu tečnosti ili polučvrstog oblika izvađenu iz svakog od 10 pojedinačnih kontejnera u uslovima normalne upotrebe. Ako je potrebno, izračunati ekvivalentnu zapreminu nakon određivanja gustine. Iz mase izvađenog sadržaja kontejnera i rezultata određivanja sadržaja izračunati sadržaj aktivne supstance iz svakog kontejnera. Izračunati prihvatljivu vrijednost.

Računanje prihvatljive vrijednosti. Izračunati prihvatljivu vrijednost (AV) kako je predstavljeno kod ujednačenosti sadržaja, uz tu razliku što su pojedinačni sadržaji doznih jedinica zamijenjeni pojedinačnim, niže definisanim, procijenjenim sadržajima.

x_1, x_2, \dots, x_n = pojedinačni procijenjeni sadržaji ispitivanih doznih jedinica;

gdje je

$$x_i = W_i \times \frac{A}{\bar{w}}$$

w_1, w_2, \dots, w_n = pojedinačne mase ispitivanih doznih jedinica;

A = sadržaj aktivne supstance (procenat deklarisanog sadržaja) dobijen primjenom odgovarajuće analitičke metode (određivanje sadržaja);

\bar{w} = srednja vrijednost pojedinačnih masa (w_1, w_2, \dots, w_n).

KRITERIJUMI

Primijeniti sljedeće kriterijume, ako nije drugačije propisano.

Čvrsti, polučvrsti i tečni farmaceutski oblici. Zahtjevi za ujednačenost doznih jedinica zadovoljeni su ako je prihvatljiva vrijednost prvih 10 doznih jedinica najviše $L1\%$. Ako je prihvatljiva vrijednost veća od $L1\%$, ispitati sljedećih 20 doznih jedinica i izračunati prihvatljivu vrijednost. Zahtjevi su postignuti ako je konačna prihvatljiva vrijednost 30 doznih jedinica najviše $L1\%$ i ni jedan pojedinačni sadržaj dozne jedinice nije niži od $(1 - L2 \times 0,01)M$ ili viši od $(1 + L2 \times 0,01)M$ u računanju prihvatljive vrijednosti za ujednačenost sadržaja ili za variranje mase. Ako nije drugačije propisano, $L1$ je $15,0$ i $L2$ je $25,0$.

5.1.4. MIKROBIOLOŠKI KVALITET NESTERILNIH FARMACEUTSKIH PREPARATA I SUPSTANCI ZA FARMACEUTSKU UPOTREBU

01/2021:50104

Prisustvo određenih mikroorganizama u nesterilnim preparatima može potencijalno smanjiti ili čak inaktivirati terapijske aktivnosti proizvoda i imati moguć negativan učinak na zdravlje pacijenta.

Zbog toga proizvođači moraju osigurati nisku vrijednost kontaminacije u gotovom proizvodu primjenom važećih smjernica *Dobre proizvođačke prakse* u toku proizvodnje, čuvanja i distribucije farmaceutskih preparata.

Mikrobiološko ispitivanje nesterilnih farmaceutskih proizvoda se provodi prema metodama datim u općim poglavljima 2.6.12 i 2.6.13. Kriterij prihvatljivosti za nesterilne farmaceutske proizvode zasniva se na ukupnom broju aerobnih mikroorganizama (TAMC) i ukupnom broju kombinirano kvasnica i plijesni (TYMC), datim u tabelama 5.1.4.-1 i 5.1.4.-2. Kriterij prihvatljivosti je baziran na rezultatima pojedinačnih ispitivanja ili prosječnim vrijednostima rezultata dobivenih ponovljenim ispitivanjima, kada se provode (na primjer, metode brojanja na pločama).

Kada je propisan kriterij prihvatljivosti za mikrobiološku čistoću, interpretira se kako slijedi:

- 10^1 CFU: maksimalno prihvatljiv broj = 20
- 10^2 CFU: maksimalno prihvatljiv broj = 200
- 10^3 CFU: maksimalno prihvatljiv broj = 2000 i tako dalje.

Tabela 5.1.4.-1. uključuje listu specifičnih mikroorganizama za koje su postavljeni kriteriji prihvatljivosti. Lista nije konačna i za date preparate po potrebi moguće je u testu provesti ispitivanja i za druge mikroorganizme, zavisno od prirode polaznih materijala i proizvodnog procesa.

Ako se pokazalo da niti jedan propisani test ne omogućava valjano određivanje broja mikroorganizama na propisanom nivou, može se koristiti druga validirana metoda koja ima limit detekcije što je moguće bliže datom kriteriju prihvatljivosti.

Tabela 5.1.4.-1. Kriteriji prihvatljivosti mikrobiološkog kvaliteta nesterilnih doznih formi

Put primjene	TAMC (CFU/g ili CFU/mL)	TYMC (CFU/g ili CFU/mL)	Specifični mikroorganizmi
Nevodeni preparati za primjenu kroz usta	10^3	10^2	odsustvo <i>Escherichia coli</i> (1 g ili 1 mL)
Vodeni preparati za primjenu kroz usta	10^2	10^1	odsustvo <i>Escherichia coli</i> (1 g ili 1 mL)
Rektalno	10^3	10^2	–
Za usnu sluznicu Za desni Za kožu Za uho	10^2	10^1	odsustvo <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ili 1 mL); odsustvo <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g ili 1 mL)
U rodnicu	10^2	10^1	odsustvo <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g ili 1 mL); odsustvo <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ili 1 mL); odsustvo <i>Candida albicans</i> (1 g ili 1 mL)
Transdermalni flasteri (granice za jedan flaster, uključujući prijanjajući sloj i potporu)	10^2	10^1	odsustvo <i>Staphylococcus aureus</i> (1 flaster); odsustvo <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 flaster)

Put primjene	TAMC (CFU/g ili CFU/mL)	TYMC (CFU/g ili CFU/mL)	Specifični mikroorganizmi
Oralni disperzibilni filmovi (granice po 1 filmu)	10 ²	10 ¹	odsustvo <i>Escherichia coli</i> (1 film); odsustvo <i>Staphylococcus aureus</i> (1 film); odsustvo <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 film)
U dišne putove (posebni zahtjevi se primjenjuju za tekuće preparate za nebulizaciju)	10 ²	10 ¹	odsustvo <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ili 1 mL); odsustvo <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g ili 1 mL); odsustvo gram-negativnih bakterija otpornih na žuč (1 g ili 1 mL)
Posebna odredba Ph. Eur. za oralne farmaceutske oblike koji sadrže sirovine prirodnog (životinjskog, biljnog ili mineralnog) porijekla, za koje nije moguće provesti antimikrobni predtretman, a za koji nadležno tijelo prihvata TAMC za sirovi materijal koji prelazi 10 ³ CFU/g ili CFU/mL.	10 ⁴	10 ²	Ne više od 10 ² CFU gram-negativnih bakterija otpornih na žuč (1 g ili 1 mL); odsustvo <i>Salmonella</i> (1 g ili 10 mL); odsustvo <i>Escherichia coli</i> (1 g ili 1 mL); odsustvo <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ili 1 mL)
Posebna odredba Ph. Eur. za predmješavine za ljekovitu hranu za veterinarsku upotrebu koje koriste pomoćne supstance biljnog porijekla za koje nije primjenjiva antimikrobna obrada.	10 ⁵	10 ⁴	Ne više od 10 ⁴ CFU gram-negativnih bakterija otpornih na žuč (1 g ili 1 mL); odsustvo <i>Escherichia coli</i> (1 g ili 1 mL); odsustvo <i>Salmonella</i> (25 g ili 25 mL)

U dodatku za mikroorganizme navedene u Tabeli 5.1.4.-1, značaj drugih poraslih mikroorganizama je procijenjen prema:

- upotrebi proizvoda: rizik povezan sa putem primjene (oko, nos, respiratorni trakt)
- prirodi proizvoda: prema sposobnosti da omogući rast, prisustvo odgovarajućih antimikrobnih konzervanasa
- načinu upotrebe
- ciljnom primaocu: rizik može biti različit za novorođenčad, malu djecu, za oslabljene organizme
- upotrebi imunosupresivnih sredstava, kortikosteroida
- prisustvu bolesti, rana, organskih oštećenja.

Gdje je zajamčeno, procjenu rizika prema relevantnim faktorima vrši osoblje sa potrebnom edukacijom iz mikrobiologije i procjene mikrobioloških podataka.

Za sirove materijale, u procjenu se uzimaju postupci kojima je proizvod podvrgnut, važeća tehnologija ispitivanja i dostupnost materijala željenog kvaliteta.

Tabela 5.1.4.-2. Kriteriji prihvatljivosti za mikrobiološki kvalitet nesterilnih supstanci za farmaceutsku upotrebu

	TAMC (CFU/g ili CFU/mL)	TYMC (CFU/g ili CFU/mL)
Supstance za farmaceutsku upotrebu	10 ³	10 ²

Preporučeni kriteriji prihvatljivosti za mikrobiološki kvalitet biljnih lijekova za oralnu primjenu i ekstrakata korištenih za njihovu pripremu navedeni su u općem poglavlju 5.1.8.

5.1.9. VODIČ ZA ISPITIVANJE STERILNOSTI

01/2009:50109

Svrha ispitivanja sterilnosti (2.6.1.), kao i svih farmakopejskih ispitivanja, jeste omogućiti nezavisnu kontrolu kojom se može provjeriti da određeni materijal zadovoljava zahtjeve Evropske farmakopeje. Proizvođač nije obavezan provoditi ova ispitivanja, niti mu je zabranjeno unijeti modifikacije ili zamjene za navedene metode, pod uvjetom da se slaže da bi, ako bi se predmetni materijal ispitao službenom metodom, trebao biti u skladu sa zahtjevima Evropske farmakopeje.

1. MJERE OPREZA PROTIV KONTAMINACIJE MIKROORGANIZMIMA

Aseptični uvjeti kod provođenja ispitivanja mogu se postići upotrebom, na primjer klase A uređaja sa laminarnim strujanjem zraka smještenog unutar čiste sobe klase B ili radom u izolatoru.

2. VODIČ ZA PROIZVOĐAČE

Nivo osiguranja dobijen zadovoljavajućim rezultatom ispitivanja sterilnosti (odsustvo kontaminiranih jedinica u uzorku), primijenjen na kvalitet serije, funkcija je homogenosti serije, uvjeta proizvodnje i efikasnosti prihvaćenog plana uzorkovanja. Stoga je za potrebe ovog teksta serija definirana kao homogeni skup zatvorenih kontejnera pripremljenih na način da je rizik kontaminacije isti za svaku jedinicu unutar tog skupa.

U slučaju završno steriliziranih proizvoda, fizički dokazi, biološki utemeljeni i automatski dokumentirani, koji pokazuju ispravnu obradu cijele serije tokom sterilizacije, pružaju veću sigurnost od samog ispitivanja sterilnosti. Okolnosti u kojima se parametarsko puštanje može smatrati odgovarajućim opisane su u 5.1.1. *Metode pripreme sterilnih proizvoda*. Metoda simulacije aseptičkog punjenja (engl. *media fill*) može se koristiti za evaluaciju procesa aseptičke proizvodnje. Pored toga, ispitivanje sterilnosti je jedina raspoloživa analitička metoda za proizvode pripremljene pod aseptičkim uvjetima i, osim toga, u svim slučajevima, jedina analitička metoda na raspolaganju nadležnim tijelima koji moraju ispitati sterilnost uzorka proizvoda.

Vjerojatnost otkrivanja mikroorganizama ispitivanjem sterilnosti raste povećanjem njihovog broja prisutnog u ispitivanom uzorku i varira prema brzini rasta prisutnih mikroorganizama. Vjerojatnost detekcije veoma niskih razina kontaminacije, čak i kada je homogeno raspodijeljena kroz seriju, veoma je niska. Tumačenje rezultata ispitivanja sterilnosti bazira se na pretpostavci da bi sadržaj svakog kontejnera u seriji, ako bi se ispitivao, dao isti rezultat. Očigledno je da svaki kontejner ne može biti ispitan, te se treba usvojiti odgovarajući plan uzorkovanja. U slučaju aseptičke proizvodnje, preporučljivo je uzeti uzorke napunjene na početku i na kraju serije, te poslije značajnih zahvata.

3. OČITANJE I INTERPRETACIJA REZULTATA

Uobičajene mikrobiološke/biokemijske tehnike općenito su zadovoljavajuće za identifikaciju mikroorganizama otkrivenih ispitivanjem sterilnosti. Međutim, ako proizvođač želi koristiti uvjet (d) kao jedini kriterij za poništavanje valjanosti ispitivanja sterilnosti, može biti neophodno da primijeni osjetljive tehnike otisaka za dokazivanje da je mikroorganizam izoliran kod ispitivanja proizvoda identičan mikroorganizmu izoliranom iz ispitivanih materijala i/ili ispitivane okoline. Dok rutinske mikrobiološke/biokemijske identifikacijske tehnike mogu pokazati da 2 izolata nisu identična, ove metode možda nisu dovoljno osjetljive ili dovoljno pouzdane da bi pružile nedvosmislen dokaz da 2 izolata potiču iz istog izvora. Više osjetljivi testovi, naprimjer molekularni otisak (engl. *molecular typing*) sa RNA/DNA homologijom, mogu biti neophodni za dokazivanje da su mikroorganizmi klonski povezani i imaju zajedničko porijeklo.

5.17.1. PREPORUKE ZA TESTIRANJE BRZINE OSLOBAĐANJA

07/2010:51701

Ovo generalno poglavlje nije obavezujuće; navodi informacije o testiranju brzine oslobađanja, preporučene disolucione medijume i izražavanje specifikacije za disoluciju za oralne dozirane oblike (vidi generalno poglavlje 2.9.3 *Ispitivanje brzine oslobađanja čvrstih doznih oblika*). Ovdje su prikazane informacije o uopšteno prihvatljivim parametrima koji se koriste u ovoj oblasti.

Prilikom određivanja brzine oslobađanja aktivne(ih) supstance(i) iz čvrstih doznih oblika, potrebno je specificirati sljedeće:

- aparaturu koju treba koristiti i, u slučaju kada je protočni uređaj specificiran, koju protočnu ćeliju je potrebno koristiti
- sastav, zapreminu i temperaturu disolucionog medijuma
- brzinu obrtaja ili protok disolucionog medijuma
- vrijeme, metodu i količinu uzorka ispitivanog rastvora ili uslove kontinuiranog praćenja
- metodu testiranja
- kriterijume prihvatljivosti.

Izbor uređaja koji će se koristiti zavisi od fizičko-hemijskih karakteristika doziranog oblika. Kada je zahtijevana velika količina disolucionog medijuma kako bi se obezbijedili *sink* uslovi ili kada je neophodna promjena pH vrijednosti, prednost se može dati protočnom uređaju.

EKSPERIMENTALNI USLOVI TESTIRANJA

Korištenje uređaja sa košaricama ili lopaticama ili klipnog cilindra generalno je bazirano na principu izvođenja pod *sink* uslovima, odnosno na takav način da nema dodatnog efekta modifikacije materijala koji je već u rastvoru na brzinu oslobađanja u odnosu na ostatak. *Sink* uslovi se normalno javljaju u zapremini disolucionog medijuma koja je najmanje 3–10 puta veća od zapremine zasićenja.

Generalno, koriste se vodeni medijumi. Sastav medijuma se bira na bazi fizičko-hemijskih karakteristika aktivne(ih) supstance(i) i ekscipijenasu u uslovima kojima će dozirani oblik vjerovatno biti izložen nakon njegove primjene. Ovo se posebno odnosi na pH i jonsku jačinu disolucionog medijuma.

Vrijednost pH disolucionog medijuma je obično postavljena između pH 1 i pH 8. U opravdanim slučajevima može biti potreban viši pH. Za niže pH vrijednosti u kiselom opsegu, obično se koristi 0,1 M hlorovodonična kiselina. Preporučeni disolucioni medijumi su propisani u nastavku.

Voda je preporučena kao disolucioni medijum jedino kada je dokazano da varijacije u pH vrijednosti nemaju uticaja na karakteristike disolucije.

U specifičnim slučajevima, a kao predmet odobravanja nadležnih tijela, disolucioni medijumi mogu sadržavati enzime, površinski aktivne materije (surfaktante), kao i ostale neorganske i organske supstance. Za testiranje preparata koji sadrže aktivne supstance slabo rastvorne u vodi, može biti neophodno modifikovanje medijuma. U takvim okolnostima preporučuje se niska koncentracija površinski aktivne materije; preporuka je i da se izbjegava upotreba organskih materija.

Gasovi rastvoreni u disolucionom medijumu mogu uticati na rezultate disolucionog testa. Ovo se odnosi samo na protočni uređaj gdje je neophodna deaeracija medijuma kako bi se izbjeglo stvaranje gasnih mjehurića u protočnoj ćeliji. Pogodna metoda deaeracije je u nastavku: zagrijati medijum uz blago miješanje do oko 41°C, odmah filtrirati pod vakuumom kroz filter poroziteta 0,45 µm ili manje, uz snažno miješanje i nastaviti miješanje pod vakuumom još oko 5 minuta. Mogu se koristiti i druge tehnike za deaeraciju i uklanjanje rastvorenog gasa iz medijuma.

Za upotrebu uređaja sa korpicama ili lopaticama, zapremina disolucionog medijuma je obično 500–1000 mL. Preporučena brzina miješanja je između 50 i 100 r/min, ne smije biti veća od 150 r/min.

Za uređaj sa protočnom ćelijom, protok tečnosti je normalno podešen između 4 mL/min i 50 mL/min.

PREPORUČENI DISOLUCIONI MEDIJUMI

Mogu se koristiti disolucioni medijumi navedeni u Tabeli 5.17.1.-1.

Tabela 5.17.1.-1. Primjeri disolucionih medijuma

pH	Disolucioni medijum
pH 1,0	HCl
pH 1,2	NaCl, HCl
pH 1,5	NaCl, HCl
pH 4,5	Fosfatni ili acetatni pufer
pH 5,5 i pH 5,8	Fosfatni ili acetatni pufer
pH 6,8	Fosfatni pufer
pH 7,2 i 7,5	Fosfatni pufer

Sastav i priprema ovih različitih medijuma naznačena je u nastavku.

Medijum sa hlorovodoničnom kiselinom

- 0,2 M hlorovodonična kiselina
- 0,2 M natrijum hlorid. Rastvoriti 11,69 g natrijum hlorida R u vodi R i rastvoriti u 1000,0 mL istog rastvarača.

Za pripremu medijuma pH vrijednosti navedene u Tabeli 5.17.1.-2, pomiješati 250,0 mL 0,2 M natrijum hlorida i specificirane zapremine 0,2 M hlorovodonične kiseline i razblažiti do 1000,0 mL vodom R.

Tabela 5.17.1.-2. Medijumi sa hlorovodoničnom kiselinom

pH	HCl (mL)
1,2	425,0
1,3	336,0
1,4	266,0
1,5	207,0
1,6	162,0
1,7	130,0
1,8	102,0
1,9	81,0
2,0	65,0
2,1	51,0
2,2	39,0

Medijum sa hlorovodoničnom kiselinom može se pripremiti i tako da se natrijum hlorid zamijeni kalijum hloridom.

Rastvori acetatnog pufera

- 2 M sirćetna kiselina. Razblažiti 120,0 g *glacijalne sirćetne kiseline R* do 1000,0 mL *vodom R*.
- Rastvor acetatnog pufera pH 4,5. Rastvoriti 2,99 g *natrijum acetata R* u vodi R. Dodati 14,0 mL 2 M sirćetne kiseline i razblažiti do 1000,0 mL *vodom R*.
- Rastvor acetatnog pufera pH 5,5. Rastvoriti 5,98 g *natrijum acetata R* u vodi R. Dodati 3,0 mL 2 M sirćetne kiseline i razblažiti do 1000,0 mL *vodom R*.
- Rastvor acetatnog pufera pH 5,8. Rastvoriti 6,23 g *natrijum acetata R* u vodi R. Dodati 2,1 mL 2 M sirćetne kiseline i razblažiti do 1000,0 mL *vodom R*.

Rastvori fosfatnog pufera

Za pripremu pufera pH vrijednosti navedenih u Tabeli 5.17.1.-3, pomiješati 250,0 mL 0,2 M *kalijum dihidrogen fosfata R* i specificirane zapremine 0,2 M *natrijum hidroksida*, i razblažiti do 1000,0 mL *vodom R*.

Tabela 5.17.1.-3. Rastvori fosfatnog pufera

pH	5,8	6,0	6,2	6,4	6,6	6,8
NaOH (mL)	18,0	28,0	40,5	58,0	82,0	112,0
pH	7,0	7,2	7,4	7,6	7,8	8,0
NaOH (mL)	145,5	173,5	195,5	212,0	222,5	230,5

Ostali rastvori fosfatnog pufera

- Rastvor fosfatnog pufera pH 4,5. Rastvoriti 13,61 g *kalijum dihidrogen fosfata R* u 750 mL *vode R*. Podesiti pH, ako je potrebno, 0,1 M *natrijum hidroksidom* ili 0,1 M *hlorovodoničnom kiselinom*. Razblažiti do 1000,0 mL *vodom R*.
- Rastvor fosfatnog pufera pH 5,5 R.
- Rastvor fosfatnog pufera pH 6,8 R1.
- Puferski rastvor pH 7,2 R.
- 0,33 M rastvor fosfatnog pufera pH 7,5 R.

Vještačka intestinalna tečnost pH 6,8

Pomiješati 250,0 mL rastvora koji sadrži 6,8 g *kalijum dihidrogen fosfata R* sa 77,0 mL 0,2 M *natrijum hidroksida* i 500 mL *vode R*. Dodati 10,0 g *pankreasnog praha R*, promiješati i podesiti pH, ako je potrebno. Razblažiti do 1000,0 mL *vodom R*.

Vještački želudačni sok

Rastvoriti 2,0 g *natrijum hlorida R* i 3,2 g *pepsin praha R* u vodi R, dodati 80 mL 1 M *hlorovodonične kiseline* i razblažiti do 1000,0 mL *vodom R*. Ako postoji zahtjev, *pepsin prah* može se izostaviti.

Porast pH vrijednosti

Za testove koji uključuju porast pH, može se upotrebljavati jedna od sljedećih sekvenci:

Vrijeme (h)	0-1	1-2	2-3	3-4	4-5	5-6	6-7	7
pH	1,0							
pH	1,2	6,8						
pH	1,2	2,5	4,5		7,0		7,5	
pH	1,5	4,5			7,2			

Da bi se izbjegle ove varijacije pH, moguće je sljedeće:

- zamijeniti jedan puferski rastvor drugim (potpuna supstitucija);
- ukloniti samo polovinu medijuma svaki put (izmjena polovine metode) i zamijeniti ga puferskim rastvorom višeg pH: inicijalni pH je 1,2, a drugi rastvor je fosfatni pufer pH 7,5; ili
- inicijalnom rastvoru pH 1,5 dodati porciju smješe koja sadrži *tris(hidroksimetil)aminometan R* i *anhidrovani natrijum acetat R* da bi se postigao pH 4,5, a da bi se dostigao pH 7,5 dodati drugu porciju, na sljedeći način:
 - *hlorovodonična kiselina pH 1,5*: rastvoriti 2 g natrijum hlorida u vodi R, dodati 31,6 mL *hlorovodonične kiseline R* i razblažiti do 1000,0 mL *vodom R*;
 - *puferski rastvor pH 4,5*: pomiješati 2,28 g *tris(hidroksimetil)aminometana R* sa 1,77 g *anhidrovanog natrijum acetata R*. Rastvoriti ovu smještu u prethodno opisanom rastvoru hlorovodonične kiseline pH 1,5;
 - *Puferski rastvor pH 7,2*: pomiješati 2,28 g *tris(hidroksimetil)aminometana R* sa 1,77 g *anhidrovanog natrijum acetata R*. Rastvoriti ovu smještu u prethodno opisanom puferskom rastvoru pH 4,5.

Za kontinuiranu promjenu pH može se koristiti protočna ćelija.

KVALIFIKACIJA I VALIDACIJA

Imajući u vidu prirodu metode testiranja, koncept *quality by design* je važan aspekt kvalifikacije opreme za *in vitro* testiranje disolucije. Moraju se izbjeći bilo koje neregularnosti poput vibracija, nepotrebnih agitacija zbog mehaničkih smetnji.

U toku kvalifikacije opreme za testiranje disolucije moraju da se uzmu u obzir dimenzije i tolerancija samog uređaja. Kritični parametri testiranja kao temperatura i zapremina medijuma, brzina obrtaja ili protok tečnosti, probe uzorkovanja i procedure moraju da se prate periodično tokom korištenja.

Performanse opreme za testiranje disolucije mogu da se prate testiranjem referentnog proizvoda koji je osjetljiv na hidrodinamične uslove. Taj test može da se sprovodi periodično ili kontinuirano kako bi se izvršilo poređenje sa drugim laboratorijama.

Tokom testiranja, zahtijeva se kritičan pristup provjeri i zapažanjima. Ovaj pristup je naročito značajan kod obrazlaganja graničnih rezultata.

Validacija automatskih sistema, bilo da je u pitanju uzorkovanje i analitički dio ili priprema disolucionih medijuma i performansi testiranja, mora da se razmotri tačno, precizno i da se izbjegne kontaminacija bilo razblaženjima, prenosom, čišćenjem ili procedurama pripreme uzorka i rastvarača.

IZRAŽAVANJE SPECIFIKACIJE ZA DISOLUCIJU KOD ČVRSTIH DOZNIH OBLIKA

Specifikacija za disoluciju se izražava u pogledu količine (Q) aktivne supstance rastvorene u specifično vrijeme, kao procenat sadržaja koji se navodi za dati proizvod.

Dozni oblici sa trenutnim oslobađanjem (konvencionalni)

U većini slučajeva kada se testiranje izvodi pod razumnim i opravdanim uslovima, kriterij prihvatljivosti na nivou $S1$ podrazumijeva da se najmanje 80% aktivne supstance oslobodi u okviru specificiranog vremena, uobičajeno za 45 min ili manje. Ovo odgovara Q vrijednosti od 75%, pošto, kao što se navodi u Tabeli 2.9.3.-1, za $S1$ nivo, individualna vrijednost svake od testiranih 6 jedinica nije manja od $Q + 5\%$, tj. nije manja od 80%.

Uobičajeno, jedan od kriterija prihvatljivosti je dovoljan da pokaže da se većina aktivne supstance oslobodila, mada u određenim okolnostima može biti neophodno da se testira(ju) dodatna(e) vremenska(e) tačka(e) kako bi se pokazala odgovarajuća disolucija.

Dozni oblici sa produženim oslobađanjem

Kriteriji prihvatljivosti za test disolucije kod oblika sa produženim oslobađanjem normalno se izražava na način da sadrži najmanje tri vremenske tačke. Prva tačka specifikacije je namijenjena da prevenira nepoželjno brzo oslobađanje aktivne supstance (odbacivanje doze, *dose dumping*). Stoga je postavljeno poslije perioda testiranja



koje odgovara oslobođenoj količini 20–30%. Druga specifikacijska tačka definiše disolucioni obrazac i podese se na oslobađanju od oko 50%. Namjena finalne specifikacijske tačke je da osigura gotovo potpuno oslobađanje koje se uopšteno podrazumijeva kao više od 80%.

Dozni oblici sa odloženim oslobađanjem

Oblici sa odloženim oslobađanjem mogu da oslobode aktivnu(e) supstancu(e) u porcijama ili potpuno u skladu sa dizajniranom formulacijom kad se testiraju u različitim disolucionim medijumima, npr. u uslovima povećanog pH. U tim slučajevima specifikacija za disoluciju zavisi od slučaja do slučaja. Gastrozistentni dozni oblici zahtijevaju najmanje dvije specifikacijske tačke u odvojenom testu i dvije različite specifikacije kod paralelnog testiranja. U odvojenom testu prva specifikacijska tačka odražava gornji limit i postavlja se nakon 1 h ili 2 h u kiselom medijumu, a druga nakon unaprijed određenog vremena testiranja u odgovarajućem puferskom rastvoru (preferiran pH 6,8).

U većini slučajeva kriterij prihvatljivosti na *B1* nivou jeste da je oslobođeno najmanje 80% aktivne supstance. Ovo odgovara *Q* vrijednosti od 75%, imajući u vidu da, pozivajući se na Tabelu 2.9.3.-4, za *B1* nivo, individualne vrijednosti svake od 6 testiranih jedinica nisu manje od $Q + 5\%$, odnosno nisu manje od 80%.



3



OPĆE I POJEDINAČNE MONOGRAFIJE

3. OPĆE I POJEDINAČNE MONOGRAFIJE

2034 SUPSTANCE ZA FARMACEUTSKU UPOTREBU

Corpora ad usum pharmaceuticum

01/2021:2034

Supstance za farmaceutsku upotrebu su bilo koje supstance organskog ili neorganskog porijekla koje se koriste kao aktivne supstance ili kao pomoćne supstance prilikom pripreme medicinskih proizvoda za humanu ili veterinarsku upotrebu. One se mogu dobiti iz prirodnih izvora ili se mogu proizvesti ekstrakcijom sirovina, fermentacijom ili sintezom.

Ova opća monografija se ne odnosi na herbalne droge, herbalne droge za homeopatske preparate, herbalne preparate, ekstrakte herbalnih droga, matične tinkture za homeopatske preparate koji su opisani u pojedinačnim općim monografijama (*Herbalne droge (1433)*, *Herbalne droge za homeopatske preparate (2045)*, *Preparati od herbalnih droga (1434)*, *Ekstrakti herbalnih droga (0765)*, *Polazne tinkture za homeopatske proizvode (2029)*). Ne odnosi se na sirove materijale za pripremu homeopatskih proizvoda, osim ukoliko postoje zasebne monografije za polazne supstance u nehomeopatskim dijelovima

Farmakopeje.

Ova monografija se ne odnosi na hemijske prekursore za radiofarmaceutske proizvode koji se nalaze u zasebnim monografijama (*Hemijski prekursori za radiofarmaceutske proizvode 2902*).

Ukoliko se koristi supstanca za farmaceutsku upotrebu koja nije opisana u pojedinačnoj monografiji u Farmakopeji za izradu medicinskog preparata za specifične potrebe pojedinačnih pacijenata, usaglašenost sa postojećim općim monografijama se provodi kroz procjenu rizika na osnovu dostupnog kvaliteta supstanci i njihove primjene.

Ako se prilikom pripreme medicinskih proizvoda koriste supstance za farmaceutsku upotrebu humanog ili životinjskog porijekla primjenjuju se zahtjevi iz poglavlja 5.1.7. *Vitalna sigurnost*.

Supstance za farmaceutsku upotrebu se mogu koristiti u pravom smislu riječi ili kao polazne sirovine za formulacije koje se koriste u pripremi medicinskih proizvoda. Ovisno o tipu formulacije, pojedinačne supstance se mogu koristiti kao aktivne supstance ili kao pomoćne supstance. Čvrste supstance se mogu komprimirati, oblagati, granulirati, pulverizirati do određene usitnjenosti ili obraditi na neki drugi način. Monografija je primjenjiva na supstance koje su obrađene skupa sa pomoćnim supstancama samo ukoliko je takva vrsta obrađivanja supstanci pomenuta u odlomku monografije koji se odnosi na definiciju.

Supstance za farmaceutsku upotrebu posebnog kvaliteta. Ukoliko nije drukčije naznačeno ili ograničeno u pojedinačnim monografijama, supstance za farmaceutsku upotrebu su namijenjene za humanu i veterinarsku upotrebu i zadovoljavajućeg su kvaliteta za pripremu svih doznih oblika u kojima se mogu koristiti.

Polimorfizam. U pojedinačnim monografijama obično nisu navedeni kristalni ili amorfni oblici osim ukoliko ne utiču na bioraspodjelu. Ako nije drukčije navedeno, svi oblici supstanci za farmaceutsku upotrebu su u skladu sa zahtjevima monografije.

PROIZVODNJA

Supstance za farmaceutsku upotrebu se proizvode po procedurama koje su osmišljene da osiguraju kontinuiran kvalitet i da udovolje zahtjevima za kvalitet pojedinačnih monografija ili odobrenih specifikacija.

Proizvodnja aktivnih supstanci se mora odvijati po smjernicama *Dobre proizvođačke prakse*.

Odredbe općeg poglavlja 5.10 se odnose na prisutnost nečistoća u supstancama za farmaceutske upotrebu.

Bez obzira je li u monografiji izričito navedeno da je supstanca za farmaceutske upotrebu:

- Rekombinantni protein ili supstanca dobijena kao rezultat produkcije gena bazirane na genetičkim modifikacijama, ukoliko je primjenjivo, supstanca je u skladu sa zahtjevima opće monografije *Proizvodi rekombinantne DNK tehnologije (0784)*;
- Dobijena iz životinja koje su suspektne prenosioci spongioformnog encefalitisa i to ne eksperimentalnim putem, ukoliko je primjenjivo, supstanca je u skladu sa zahtjevima opće monografije *Proizvodi sa rizikom od prenošenja uzročnika spongioformnog encefalitisa (1483)*;
- Supstanca nastala fermentacijskim procesom, bilo da su polazni mikroorganizmi modifikovani tradicionalnim postupcima ili postupkom rekombinantne DNK (rDNK) tehnologije, ukoliko je primjenjivo, supstanca je u skladu sa zahtjevima opće monografije *Produkti fermentacije (1468)*.

Ukoliko se koriste otapala prilikom proizvodnje supstanci za farmaceutske upotrebu, ona moraju biti određenog i odgovarajućeg kvaliteta. U razmatranje se uzimaju njihova toksičnost i rezidue (5.4). Ukoliko se koristi voda prilikom proizvodnje, i ona mora biti odgovarajućeg kvaliteta.

Identitet elementarnih nečistoća dobijenih namjernim dodavanjem katalizatora i reagenasa procesu proizvodnje je poznat, i način njihovog kontrolisanja bi se trebao utvrditi po principima procjene rizika.

Ukoliko su supstance proizvedene ili obrađene radi postizanja određenog oblika ili kvaliteta, taj oblik i kvalitet moraju biti u skladu sa zahtjevima monografije. Za ispitivanje osobina koje mogu uticati na prikladnost same supstance kao i doznih oblika nastalih od iste supstance preporučuju se određena ispitivanja vezana za funkcionalnost.

Praškaste supstance se mogu prerađivati kako bi se dobio odgovarajući stepen usitnjenosti (2.9.35).

Komprimirane supstance se prerađuju kako bi se povećala veličina čestica ili kako bi se dobile čestice specifičnog oblika i/ili za proizvodnju supstanci sa većom nasipnom gustinom (*bulk density*).

Obložene aktivne supstance se sastoje od čestica aktivne supstance obloženih jednom ili više pomoćnih supstanci.

Granulirana aktivna supstanca su čestice specifične veličine i oblika nastale procesom granulacije direktno iz aktivne supstance ili uz pomoć jedne ili više prikladnih pomoćnih supstanci.

Ukoliko se supstance obrađuju uz pomoć pomoćnih supstanci, pomoćne supstance moraju biti u skladu sa zahtjevima date monografije ili, ukoliko ne postoji ta specifična monografija, onda u skladu sa odobrenim zahtjevom kvaliteta.

Ukoliko se aktivne supstance obrađuju zajedno sa pomoćnim supstancama kako bi se dobile npr. obložene ili granulirane supstance, taj proces se odvija po smjernicama dobre proizvođačke prakse i obrađene supstance se smatraju intermedijerima u proizvodnji medicinskog proizvoda.

OSOBINE

Tvrđnje u okviru poglavlja Osobine (npr. podaci o topivosti ili tački topljenja) ne trebaju se tumačiti striktno i ne smatraju se zahtjevima, već su navedeni informativno.

Ukoliko supstanca pokazuje polimorfizam, to može biti navedeno u okviru poglavlja Osobine kako bi korisniku privuklo pažnju da uzme ovu informaciju u obzir prilikom odabira formulacije za pripremanje lijeka.

IDENTIFIKACIJA

Ukoliko pojedinačna monografija pod Identifikacijom sadrži pododjeljke „Prva identifikacija“ i „Druga identifikacija“, ispitivanja koja su propisana u „Prvoj identifikaciji“ se mogu koristiti u svim okolnostima. Ispitivanje ili ispitivanja koja su propisana u okviru „Druge identifikacije“ mogu se koristiti samo u apotekama pod uslovom da se u potpunosti može dokazati da su supstanca ili preparat sljedivi do serije koja je u skladu sa zahtjevima monografije. Odabir ispitivanja u okviru „Druge identifikacije“ predmet je nacionalne regulative.

Određene monografije daju dva ili više setova ispitivanja u okviru prve identifikacije koji su međusobno ekvivalentni i mogu se koristiti neovisno. Jedan ili više ovih setova obično sadrži unakrsnu referencu sa ispitivanjima opisanima u monografiji u dijelu Ispitivanja. Ovo se može koristiti kako bi se pojednostavio rad analitičara prilikom identifikacije i propisanih ispitivanja.

Primjerice, jedan identifikacijski set sa unakrsnom referencom je ispitivanje čistoće enantiomera, dok drugi set daje ispitivanje specifične optičke rotacije: namjera oba testa je ista, potvrditi prisustvo ispravnog enantiomera.

ISPITIVANJA

Polimorfizam (5.9.). Ukoliko kristalna ili amorfna priroda supstance donosi ograničenja kad je u pitanju njena upotreba u preparatima, tada se specifična kristalna ili amorfna forma identifikuje, ispita se njena morfologija na odgovarajući način i identitet te forme se naznači na oznaci.

Srodne supstance. Organske nečistoće u aktivnim supstancama se moraju navesti, identifikovati kad god je to moguće i kvalifikovati na način kako je prikazano u Tabeli 2034.-1. ili u Tabeli 2034.-2. za peptide dobijene hemijskom sintezom, ukoliko nije drukčije propisano, opravdano ili odobreno.

Tabela 2034.-1. Prikazivanje, identifikacija i kvalifikacija organskih nečistoća u aktivnim supstancama

Primjena	Najveća dnevna doza	Prag detekcije	Prag identifikacije	Prag kvalifikacije
Za humanu ili humanu i veterinarsku primjenu	≤ 2 g/dan	>0,05%	>0,10% ili dnevni unos >1,0 mg (uzima se u obzir manje)	>0,15% ili dnevni unos > 1,0 mg (uzima se u obzir manje)
Za humanu ili humanu i veterinarsku primjenu	>2 g/dan	>0,03%	0,05%	0,05%
Veterinarska primjena isključivo	Nije primjenjivo	>0,10%	>0,20%	>0,50%

Tabela 2034.-2. Prikazivanje, identifikacija i kvalifikacija organskih nečistoća u peptidima dobijenim hemijskom sintezom

Prag detekcije	Prag identifikacije	Prag kvalifikacije
>0,1%	>0,5%	>1,0%

Specifični pragovi se mogu primijeniti za nečistoće za koje je poznato da su vrlo jakog djelovanja ili koje uzrokuju toksične ili neočekivane farmakološke efekte.

Aktivne supstance koje se koriste u lijekovima za humanu primjenu po pitanju DNK reaktivnih nečistoća moraju zadovoljiti kriterije ICH-smjernice M7 *Procjena i kontrola DNK-reaktivnih nečistoća u farmaceutskim preparatima kako bi se ograničio njihov potencijalni karcinogeni rizik* (engl. *Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to limit Potential Carcinogenic Risk*) u slučajevima koji se nalaze u području primjene smjernice.

Ukoliko u sklopu pojedinačne monografije nema prikladne provjere za novu nečistoću, potrebno je razviti odgovarajuću metodu ispitivanja i priložiti je uz specifikaciju za kontrolu kvaliteta supstance.

Navedeni zahtjevi se ne primjenjuju na biološke i biotehnoške farmaceutske proizvode, oligonukleotide, proizvode nastale fermentacijom i od njih nastale polusintetičke proizvode, niti na sirove proizvode biljnog ili životinjskog porijekla ili herbalne proizvode.

Elementarne nečistoće. Medicinski proizvod mora biti u skladu sa dozvoljenim dnevnim izlaganjem elementarnim nečistoćama (npr. kao što je navedeno u ICH Q3D smjernici čiji se sadržaj temelji na općem poglavlju 5.20 *Elementarne nečistoće*). Pojedinačne monografije za supstance u farmaceutskoj primjeni ne sadrže specifikacije za elementarne nečistoće, osim ukoliko nije drukčije propisano.

Rezidualna otapala su ograničena u skladu sa načelima definisanim u poglavlju 5.4, koristeći opću metodu 2.4.24 ili neku drugu odgovarajuću metodu. Ukoliko je sprovedeno kvantitativno određivanje rezidualnog otapala, a pritom nije obavljeno ispitivanje na gubitak sušenjem, količina rezidualnog otapala se uzima u obzir prilikom izračunavanja sadržaja supstance, optičke rotacije i specifične apsorbance.

Mikrobiološki kvalitet. U pojedinačnim monografijama mogu se pronaći kriteriji prihvatljivosti za mikrobiološki kvalitet gdje god je takva kontrola nužna. U Tabeli 5.1.4.-2. Kriteriji prihvatljivosti za mikrobiološki kvalitet nesterilnih supstanci za farmaceutsku upotrebu, u poglavlju 5.1.4. Mikrobiološki kvalitet nesterilnih farmaceutskih proizvoda i supstanci za farmaceutsku upotrebu daju se preporuke od općeg značaja za mikrobiološki kvalitet supstanci koje su podložne mikrobiološkoj kontaminaciji. Ovisno o prirodi same supstance i njezinoj namjeni, usvajaju se različiti kriteriji prihvatljivosti.

Sterilnost (2.6.1). Ukoliko je supstanca namijenjena za proizvodnju sterilnih doznih oblika bez daljeg prikladnog postupka sterilizacije ili ako je deklarirana kao sterilna, supstanca za farmaceutsku upotrebu je u skladu sa kriterijima za ispitivanje sterilnosti.

Bakterijski endotoksini (2.6.14). Supstance za farmaceutsku upotrebu su u skladu sa ispitivanjima za bakterijske endotoksine ukoliko su deklarirane po stepenu čistoće kao supstance bez bakterijskih endotoksina ili ako su namijenjene za proizvodnju parenteralnih proizvoda ili proizvoda za ispiranje bez dalje prikladne metode za odstranjivanje bakterijskih endotoksina. Limit je određen u skladu sa preporukama i općeg poglavlja 5.1.10. *Smjernice za izvođenje testa na bakterijske endotoksine*, ukoliko nije naveden u pojedinačnoj monografiji.

Pirogeni (2.6.8). Supstanca za farmaceutsku upotrebu je u skladu sa zahtjevima za ispitivanje pirogena ukoliko je ispitivanje pirogena opravdanije nego ispitivanje na endotoksine i ukoliko je deklarirano da ne sadrži pirogene. Limit i metoda za ispitivanje su navedeni u pojedinačnim monografijama ili ih je odobrilo nadležno tijelo. Na osnovu odgovarajućeg testa validacije za bakterijske endotoksine i pirogene, ispitivanje na bakterijske endotoksine može zamijeniti ispitivanje na pirogene.

Dodatne karakteristike. Provjera dodatnih karakteristika (npr. fizičke osobine, osobine povezane sa funkcionalnošću) može biti potrebna zbog specifičnog procesa proizvodnje ili zbog formulacije lijeka. Supstanca može biti različitog stepena čistoće (kao što su sterilno, bez endotoksina, apirogeno) radi proizvodnje preparata za parenteralnu primjenu ili druge dozne oblike, a odgovarajući zahtjevi se mogu navesti u pojedinačnoj monografiji.

ODREĐIVANJE

Ukoliko nije opravdano i odobreno, potrebno je odrediti sadržaj supstance za farmaceutsku upotrebu. Za to se koriste prikladne metode.

OZNAČAVANJE

Generalno, označavanje je pitanje nadnacionalne i nacionalne zakonske regulative i međunarodnih ugovora. Izjave u okviru poglavlja Označavanje nisu sveobuhvatne te se u farmakopejske svrhe uzimaju u obzir kao obavezne samo izjave koje dokazuju da li je nešto u skladu sa monografijom ili nije. Sve ostale izjave o označavanju se smatraju preporukama. Kad se u Farmakopeji koristi termin „oznaka” podaci o označavanju se mogu navesti na spremniku, pakovanju, uputstvu za primjenu koje se stavlja u pakovanje ili u popratnom certifikatu analize, kako je odlučilo nadležno tijelo.

Kad je to primjenjivo, na oznaci stoji da je supstanca:

- namijenjena za posebnu upotrebu
- posebnog kristalnog oblika
- posebnog stepena usitnjenosti
- komprimirana
- obložena
- granulirana
- sterilna
- bez bakterijskih endotoksina
- apirogena
- sadrži sredstva za klizanje.

Kad je primjenjivo, oznaka sadrži i informacije o:

- stepenu hidratacije
- naziv i koncentraciju svih pomoćnih supstanci.

2619 FARMACEUTSKI PREPARATI

Pharmaceutica

04/2019:2619

UVOD

Ova monografija je namijenjena kao referentni izvor standarda u Europskoj farmakopeji vezano za aktivne supstance, ekscipijense i farmaceutske oblike koji se primjenjuju u proizvodnji/pripremi lijekova. Monografija nije vodič za proizvodnju jer postoje posebna uputstva koja obrađuju proizvodne postupke i posljedičnu kontrolu.

Monografija ne obuhvata lijekove u kliničkom ispitivanju, ali nadležni organi mogu se pozivati na farmakopejske standarde prilikom odobravanja kliničkih ispitivanja za ispitivane lijekove.

DEFINICIJA

Farmaceutski preparati su ljekoviti proizvodi koji se obično sastoje od aktivnih supstanci koje se mogu kombinovati s ekscipijensima, formuliranim u farmaceutski oblik pogodan za predviđenu upotrebu, ako je potrebno nakon rekonstitucije, a koji se nalaze u prikladnom i na odgovarajući način označenom pakovanju.

Farmaceutske preparate može licencirati nadležno tijelo ili kao nelicencirane izrađivati prema posebnim potrebama pacijenata u skladu sa važećom legislativom. Dvije su kategorije nelicenciranih farmaceutskih preparata:

- magistralni (*ex tempore*) izrađeni preparati, tj. farmaceutski preparati pojedinačno pripremljeni za određenog pacijenta ili grupu pacijenata, a koji se koriste nakon pripreme;
- galenski preparati, tj. farmaceutski preparati pripremljeni unaprijed i pohranjeni do zaprimanja zahtjeva za isporuku.

Uz ovu monografiju, farmaceutski preparati također su u skladu s Općim napomenama i odgovarajućim općim poglavljima Farmakopeje. Opća poglavlja se obično daju za informaciju i postaju obavezna kada se spominju u općoj ili posebnoj monografiji, osim ako je naznačeno da se tekst navodi samo kao informacija, a ne kao obaveza.

Gdje je relevantno, farmaceutski preparati u skladu su s monografijama za farmaceutske oblike (npr. *Kapsule (0016)*, *Tablete (0478)*) i općim monografijama koje se odnose na farmaceutske preparate (npr. *Alergeni (1063)*, *Biljni čajevi (1435)*, *Homeopatski preparati (1038)*, *Homeopatske pilule, obložene (2786)*, *Homeopatske pilule, impregnirane (2079)*, *Imunoserumi za humanu upotrebu, animalni (0084)*, *Imunoserumi za veterinarsku upotrebu (0030)*, *Živi bioterapeutske proizvodi za humanu upotrebu (3053)*, *Monoklonska antitijela za humanu upotrebu (2031)*, *Radiofarmaceutski preparati (0125)*, *Vakcine za humanu upotrebu (0153)*, *Vakcine za veterinarsku upotrebu (0062)*).

ETIČKA RAZMATRANJA I SMJERNICE U PRIPREMI NELICENCIRANIH FARMACEUTSKIH PREPARATA

Temeljni princip legislative za farmaceutske preparate je da, uz posebne iznimke, nijedan farmaceutski preparat ne smije biti stavljen na tržište bez odgovarajućeg odobrenja za stavljanje u promet. Izuzeto od formalnog zahtjeva za izdavanje dozvole, omogućena je isporuka nelicenciranih preparata kako bi se zadovoljile posebne potrebe pojedinih pacijenata. Međutim, prilikom odlučivanja o korištenju nelicenciranog preparata i daljnjoj brizi za pacijenta uključeni su svi zdravstveni radnici u okviru svojih područja odgovornosti (npr. liječnici koji propisuju lijek i/ili farmaceuti uključeni u pripremu lijeka).

Pri razmatranju pripreme nelicenciranog farmaceutskog preparata poduzima se odgovarajuća razina procjene rizika, koja uključuje:

- kritičnost različitih parametara na kvalitetu preparata (npr. kvalitet aktivnih supstanci, ekscipijensa i pakovanja; dizajn postupka pripreme; obim i nivo testiranja; stabilnost preparata); i
- rizik koji preparat može predstavljati određenoj grupi pacijenata.

Na temelju procjene rizika, osoba odgovorna za pripremu mora osigurati, s odgovarajućom razinom sigurnosti, da je farmaceutski preparat u toku roka trajanja odgovarajuće kvalitete i prikladan za određenu namjenu. Za galenske preparate, uslovi skladištenja i rok trajanja moraju biti utemeljeni na osnovu analitičkih podataka ili stručne prosudbe koja može biti zasnovana na literaturnim podacima.

PROIZVODNJA

Proizvodnja/priprema mora se odvijati u okviru odgovarajućeg sistema kvalitete i biti u skladu sa standardima relevantnim za konkretnu vrstu proizvoda.

Licencirani preparati moraju biti u skladu sa zahtjevima njihove licence. Za nelicencirane proizvode procjena rizika navedena u odjeljku „Etička razmatranja i smjernice u pripremi nelicenciranih farmaceutskih preparata” od posebnog je značaja, jer ih prethodno ne procjenjuje nadležno tijelo.

Kada se farmaceutski preparati proizvode/pripremaju upotrebom materijala ljudskog ili životinjskog porijekla, primjenjuju se, prema potrebi, opći zahtjevi u okviru općih poglavlja 5.1.7. *Virusna sigurnost* i 5.2.6. *Procjena sigurnosti veterinarskih vakcina i imunoseruma* i opća monografija *Proizvodi s rizikom prijenosa uzročnika životinjske spongiformne encefalopatije (1483)*.

Formulacija. Tokom farmaceutskog razvoja ili prije proizvodnje/pripreme, odgovarajući sastojci, postupci, ispitivanja i specifikacije identificiraju se i potvrđuju kako bi se osigurala prikladnost proizvoda za određenu namjenu. Ovo uključuje razmatranje da li su određena svojstva sastojaka ili procesni koraci kritični za traženi kvalitet farmaceutskih preparata.

Aktivne supstance i ekscipijensi. Aktivne supstance i ekscipijensi koje se koriste u formulaciji farmaceutskih preparata u skladu su sa zahtjevima općih monografija, npr. *Supstance za farmaceutsku upotrebu (2034)*, *Eterična ulja (2098)*, *Ekstrakti biljnih droga (0765)*, *Biljne droge (1433)*, *Preparati biljnih droga (1434)*, *Biljne droge za homeopatske preparate (2045)*, *Matične tinkture za homeopatske preparate (2029)*, *Metode pripreme homeopatskih koncentrata i potencija (2371)*, *Proizvodi fermentacije (1468)*, *Proizvodi rekombinantne DNK tehnologije (0784)*, *Biljna masna ulja (1579)*.

Dodatno, tamo gdje postoje pojedinačne monografije, kvalitet korištenih aktivnih supstanci i ekscipijensa u skladu je s pripadajućim monografijama.

Tamo gdje ne postoje pojedinačne monografije, traženi kvalitet potrebno je utvrditi uzimajući u obzir očekivanu upotrebu i rizik.

Kada su fizičko-hemijska svojstva aktivnih supstanci i funkcionalne karakteristike ekscipijensa (npr. raspodjela veličine čestica, viskoznost, polimorfizam) ključne u odnosu na njihovu ulogu u procesu proizvodnje i zahtjeve kvaliteta farmaceutskog preparata, moraju se identificirati i kontrolisati. Detaljne informacije date su u općem poglavlju 5.15. *Funkcionalne karakteristike ekscipijensa*.

Mikrobiološki kvalitet. Formulacija farmaceutskog preparata i njegovo pakovanje moraju osigurati da je mikrobiološki kvalitet prikladan za očekivanu upotrebu.

Tokom razvoja, mora se potvrditi da antimikrobna aktivnost preparata kao takvog ili, ako je potrebno, dodavanjem odgovarajućeg(ih) konzervan(a)sa, ili odabirom odgovarajućeg pakovanja, osigurava odgovarajuću zaštitu od štetnih učinaka koji mogu nastati usljed mikrobiološke kontaminacije ili proliferacije tokom skladištenja i upotrebe preparata. Odgovarajuća test-metoda ispitivanja zajedno s kriterijima za procjenu svojstava konzervansa opisana je u općem poglavlju 5.1.3. *Učinkovitost konzervansa*.

Ako preparati nemaju odgovarajuće antimikrobno djelovanje i ne sadrže konzervanse, pakuju se u jednostavnim spremnicima ili višedoznim spremnicima koji sprječavaju mikrobiološku kontaminaciju nakon otvaranja.

Tokom proizvodnje/pripreme nesterilnih farmaceutskih preparata potrebno je poduzeti odgovarajuće mjere kojim bi se osigurao njihov mikrobiološki kvalitet, u skladu sa preporukama datim u općim poglavljima 5.1.4. *Mikrobiološki kvalitet nesterilnih farmaceutskih preparata i supstanci za farmaceutsku upotrebu* i 5.1.8. *Mikrobiološki kvalitet biljnih lijekova za peroralnu primjenu i ekstrakata korištenih za njihovu pripremu*.

Sterilni preparati proizvode/pripremaju se koristeći materijale i metode dizajnirane da osiguraju sterilnost i spriječe unošenje kontaminanata i rast mikroorganizama; preporuke u ovom pogledu date su u općem poglavlju 5.1.1. *Metode pripreme sterilnih proizvoda*.

Spremnici. Odabere se odgovarajući spremnik uzimajući u obzir očekivanu upotrebu preparata, svojstva spremnika, traženi rok trajanja i inkompatibilnosti između preparata i spremnika. Kada je primjenjivo, spremnici za farmaceutske preparate udovoljavaju zahtjevima za spremnike (3.2. i pododjeljak) i za materijale koji se koriste za proizvodnju spremnika (3.1. i pododjeljak).

Stabilnost. Zahtjevi za stabilnost farmaceutskih preparata ovise o njihovoj očekivanoj upotrebi i željenom vremenu skladištenja. Kada je primjenjivo, moraju se procijeniti vjerovatnost i kritičnost zbog mogućih razgradnih produkata aktivne(ih) supstance(i) i/ili reakcijskih produkata aktivne(ih) supstance(i) s ekscipijensom i/ili primarnim spremnikom. Ovisno o rezultatu procjene, postavljaju se i nadziru limiti degradacionih i/ili reakcijskih produkata u farmaceutskom preparatu. Za licencirane preparate potrebno je pratiti stabilnost. Metode koje se koriste za ispitivanje stabilnosti odgovarajućih svojstava preparata validiraju se kao stabilitetno indikativne, što znači da metode omogućavaju kvantificiranje odgovarajućih razgradnih produkata i promjene fizičkih svojstava.

ISPITIVANJA

Odgovarajuća ispitivanja koja se provode kako bi se osigurala odgovarajuća kvaliteta određenog farmaceutskog oblika opisana su u monografijama specifičnih farmaceutskih oblika.

Kada nije praktično provesti ispitivanja nelicenciranih farmaceutskih preparata (npr. zbog veličine serije, vremenskih ograničenja), uvode se druge prikladne metode kako bi se osiguralo da je postignuta odgovarajuća kvaliteta u skladu s provedenom procjenom rizika i svim lokalnim vodičima ili zakonskom regulativom.

Galenski preparati uobičajeno se ispituju u većoj mjeri nego magistralni preparati.

Sljedeća ispitivanja primjenjiva su na mnoge preparate i navedena u nastavku.

Izgled. Izgled (npr. veličina, oblik i boja) farmaceutskog preparata se kontroliše.

Identifikacija i testovi čistoće. Kada je primjenjivo, na farmaceutskom se preparatu provode sljedeća ispitivanja:

- identifikacija aktivne(ih) supstance(i);
- identifikacija specifičnog(ih) ekscipijen(a)sa, kao što su konzervansi;
- ispitivanje čistoće (npr. istraživanje razgradnih produkata, rezidualnih otapala (2.4.24) ili drugih srodnih onečišćenja, sterilnost (2.6.1);
- neškodljivost (npr. ispitivanje neškodljivosti bioloških proizvoda).

Elementarna onečišćenja. Opće poglavlje 5.20 *Elementarna onečišćenja* primjenjuje se na farmaceutske preparate uz iznimku proizvoda za veterinarsku primjenu, preparata koji ne podliježu odobravanju i drugih proizvoda koji ne ulaze u područje primjene ovog poglavlja.

Sami proizvođači ostaju odgovorni za kontrolu razina elementarnih onečišćenja, na načelima upravljanja rizicima, onih proizvoda koji su izvan područja primjene ovog općeg poglavlja 5.20.

Ispitivanje se, ako je primjereno, provodi pomoću odgovarajućih analitičkih postupaka prema općem poglavlju 2.4.20. *Određivanje elementarnih onečišćenja*.

Ujednačenost (2.9.40 ili 2.9.5/2.9.6). Farmaceutski preparati u jednodoznim spremnicima udovoljavaju ispitivanju(ima) propisanom odgovarajućom specifičnom monografijom farmaceutskog oblika. Ako je opravdano i odobreno, opće poglavlje 2.9.40 može se primjenjivati samo kod puštanja u promet.

Posebni zahtjevi ujednačenosti primjenjuju se u sljedećim slučajevima:

- za biljne droge i preparate biljnih droga, udovoljavanje općem poglavlju 2.9.40. nije obavezujuće;
- za homeopatske preparate, odredbe općeg poglavlja 2.9.6. i 2.9.40. uglavnom nisu prikladne, ipak, u određenim okolnostima, nadležno tijelo može zahtijevati udovoljavanje ovim poglavljima;
- za monovitaminske i multivitaminske preparate, te preparate elemenata u tragovima, udovoljavanje općim poglavljima 2.9.6. i 2.9.40. (samo ujednačenost sadržaja) nije obavezujuće;
- u opravdanim i odobrenim slučajevima, za druge preparate, nadležno tijelo ne mora zahtijevati udovoljavanje općim poglavljima 2.9.6. i 2.9.40.

Referentni standardi. Referentni standardi mogu biti potrebni u različitim fazama kontrole kvaliteta farmaceutskih preparata. Uspostavljaju se i nadziru u skladu sa odredbama općeg poglavlja 5.12. Referentni standardi.

SADRŽAJ

Ako nije drugačije opravdano i odobreno, u farmaceutskim se preparatima određuje sadržaj aktivnih supstanci i specifičnih ekscipijenasa, kao što su konzervansi. Granice moraju biti definirane i opravdane.

Koriste se prikladne i validirane metode. Ako se koriste metode propisane u odgovarajućoj monografiji aktivne supstance, mora se dokazati da na njih nije imala uticaja prisutnost ekscipijenasa i/ili formulacija.

Referentni standardi. Vidjeti Ispitivanja.

OZNAČAVANJE I ČUVANJE

Primjenjuju se odgovarajući zahtjevi za označivanje dati u općim monografijama za farmaceutske oblike. Dodatno, primjenjuju se odgovarajući propisi Europske unije ili bilo koji drugi primjenjivi propisi po tom pitanju.

RJEČNIK

Formulacija: oblikovanje odgovarajuće recepture (uključujući materijale, postupke itd.) koje će osigurati da pacijent prima prikladan farmaceutski preparat, u odgovarajućem obliku, zahtijevanog kvaliteta, koji će biti stabilan i učinkovit kroz zahtijevano vremensko razdoblje.

Licencirani farmaceutski preparat: lijek kojem je nadležno tijelo dodijelilo odobrenje za stavljanje u promet. Sinonim: odobreni farmaceutski preparat.

Proizvodnja: sve radnje nabavke materijala i proizvoda, proizvodnja, kontrola kvaliteta, puštanje u promet, čuvanje, distribucija lijekova i odgovarajuće kontrole.

Priprema (nelicenciranih farmaceutskih preparata): 'proizvodnja' nelicenciranih farmaceutskih preparata u apotekama ili drugim zdravstvenim ustanovama ili na njihov zahtjev (pojam 'priprema' koristi se umjesto 'proizvodnja' kako bi se jasno razlikovala od industrijske proizvodnje odobrenih farmaceutskih preparata).

Rekonstitucija: rukovanje kojim se omogućuje upotreba ili primjena odobrenog lijeka u skladu sa uputama datim u sažetku opisa svojstava lijeka ili u uputi o lijeku.

Procjena rizika: identifikacija opasnosti te analiza i ocjena rizika povezanih s izloženošću tim opasnostima.

Nelicencirani farmaceutski preparat: lijek izuzet potrebe dodjeljivanja odobrenja za stavljanje u promet od strane nadležnog tijela, a izrađuje se za specifične potrebe pacijenata u skladu sa zakonskom regulativom.

0008 VODA, PREČIŠĆENA

Aqua purificata

042018:0008

H₂OM_r 18,02

DEFINICIJA

Prečišćena voda namijenjena je za pripremu svih lijekova osim onih za koje je propisano da trebaju biti i sterilni i airogeni, ako nije drugačije opravdano i odobreno.

Prečišćena voda na veliko
(*Purified water in bulk*)

PROIZVODNJA

Prečišćena voda na veliko priprema se destilacijom, jonskom izmjenom, reverznom osmozom ili nekom drugom prikladnom metodom, od vode koja zadovoljava propise za pitku vodu određene od strane nadležnog tijela.

Prečišćena voda na veliko čuva se i distribuira u uslovima koji sprečavaju rast mikroorganizama i onemogućuju bilo kakvo drugo onečišćenje.

Mikrobiološko praćenje. Tokom proizvodnje i naknadnog čuvanja, poduzimaju se odgovarajuće mjere kako bi se osigurala prikladna provjera i praćenje ukupnog broja mikroorganizama. Odgovarajuće granice upozorenja i granice akcije postavljaju se tako da ukazuju na nepovoljne trendove. Pod uobičajenim slovima, odgovarajuća granica akcije je kad ukupan broj mikroorganizama dosegne 100 CFU/mL, određeno filtracijom kroz membranu nominalne veličine pora od najviše 0,45 μm, uz korištenje R2A agar podloge i uz inkubaciju na 30–35°C tokom najmanje 5 dana. Veličina uzorka odabire se prema očekivanom rezultatu.

R2A agar

Ekstrakt kvasca	0,5 g
Pepton proteaze	0,5 g
Hidrolizat kazeina	0,5 g
Glukoza	0,5 g
Skrob	0,5 g
Dikalijum-hidrogenfosfat	0,3 g
Magnezijum-sulfat, bezvodni	0,024 g
Natrijum-piruvat	0,3 g
Agar	15,0 g
Prečišćena voda	do 1000 mL

Podešavanje pH se vrši nakon sterilizacije i treba da bude 7,2 ± 0,2. Steriliše se u autoklavu 15 min. na 121°C.

Promocija rasta na R2A agaru

- **Priprema testnih sojeva.** Koriste se normirane stabilne suspenzije testnih sojeva ili se pripreme kako je navedeno u Tabeli 0008.-1. Tehnike presijavanja kultura (*engl. seed lot system*) koriste se tako da živi mikroorganizmi, namijenjeni inokulaciji, nisu udaljeni za više od pet pasaža od izvorne matične sjemenske serije. Svaki od bakterijskih sojeva uzgoji se odvojeno, kako je opisano u Tabeli 0008.-1. Za pripremu ispitivanih suspenzija koristi se puferovan rastvor natrijum-hlorida i peptona pH 7,0 ili rastvor fosfatnog pufera pH 7,2. Suspenzije se trebaju upotrijebiti unutar 2 h ili unutar 24 h ako se čuvaju na 2–8°C. Kao

druga mogućnost umjesto pripreme i razrjeđenja svježe pripremljenih suspenzija vegetativnih stanica *Bacillus subtilis*, pripremi se stabilna suspenzija spora, nakon čega se odgovarajuća zapremina suspenzije spora upotrijebi za testnu inokulaciju. Stabilna suspenzija spora može se održavati na 2–8°C kroz validiran vremenski period.

- *Promocija rasta*. Ispita se svaka serija gotove podloge i svaka serija podloge pripremljene bilo iz dehidrirane podloge, ili iz opisanih sastojaka. Posebno se inokuliraju ploče R2A agara malim brojem (ne više od 100 CFU) mikroorganizama navedenih u Tabeli 0008.-1. Inkubira se prema uslovima opisanim u tabeli. Postignuti rast ne smije se razlikovati za faktor veći od 2 u odnosu na izračunatu vrijednost standardizovanog inokuluma. Za svježe pripremljeni inokulum, rast mikroorganizama mora biti uporediv sa rastom na prethodno ispitanim i odobrenim serijama podloga.

Tabela 0008.-1. Promocija rasta na R2A agaru

Mikroorganizam	Priprema testnih sojeva	Promocija rasta
Pseudomonas aeruginosa kao što su: ATCC 9027 NCIMB 8626 CIP 82.118 NBRC 13275	Agar od hidrolizata kazeina i soje ili bujon od hidrolizata kazeina i soje 30–35°C 18–24 h	R2A agar ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 3 dana
Bacillus subtilis Kao što su: ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	Agar od hidrolizata kazeina i soje ili bujon od hidrolizata kazeina i soje 30–35°C 18–24 h	R2A agar ≤ 100 CFU 30–35°C ≤ 3 dana

Ukupan organski ugljik ili oksidabilne supstance. Provede se ispitivanje ukupnog organskog ugljika (2.2.44) s granicom od 0,5 mg/L ili alternativno, provede se sljedeće ispitivanje oksidabilnih supstanci: u 100 mL doda se 10 mL diluirane sulfatne kiseline R i 0,1 mL 0,02 M kalijum-permanganata i kuha se 5 min; otopina ostaje blijedoružičasta.

Provodljivost. Provodljivost se odredi protočno (*engl. inline*) ili u izdvojenom uzorku vode (*engl. offline*) pri sljedećim uslovima.

OPREMA

Konduktometrijska ćelija:

- elektrode od prikladnog materijala, kao što je nehrđajući čelik;
- konstanta ćelije: konstanta ćelije je najčešće sertifikovana od strane dobavljača, te se naknadno provjerava u odgovarajućim razmacima pomoću sertifikovanog poredbenog rastvora koji ima provodljivost manju od 1500 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, ili poređenjem sa ćelijom koja ima sertifikovanu ćelijsku konstantu. Konstanta ćelije je potvrđena ako je vrijednost unutar 2% od sertifikovane vrijednosti; u suprotnom je potrebno ponoviti kalibraciju.

Konduktometar: tačnost od 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ili bolja u najnižem području.

Kalibracija sistema (konduktometrijska ćelija i konduktometar):

- u odnosu na jednu ili više prikladnih sertifikovanih referentnih rastvora;
- tačnost: unutar 3% od izmjerene provodljivosti uvećane za 0,1 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Kalibracija konduktometra: kalibracija se provodi za svako od korištenih mjernih područja, nakon isključivanja veze s konduktometrijskom ćelijom, pomoću sertifikovanih rastvora za mjerenje preciznosti ili ekvivalentnih uređaja s mjernom nesigurnošću od najviše 0,1% od potvrđene vrijednosti.

Ako se protočna konduktometrijska ćelija ne može rastaviti, kalibracija sistema može se provesti u odnosu na konduktometar – mjerni instrument, čija je konduktometrijska ćelija postavljena u prostor sa proticanjem vode u blizini ćelije koju treba kalibrirati.

Mjerenje temperature: dopušteno odstupanje $\pm 2^{\circ}\text{C}$.

POSTUPAK

Izmjeri se provodljivost bez temperaturne kompenzacije, uz istovremeno bilježenje temperature. Mjerenje uz temperaturnu kompenzaciju može se provesti nakon odgovarajuće validacije.

Ispitivana voda zadovoljava zahtjeve ako izmjerena provodljivost kod zabilježene temperature nije veća od vrijednosti u Tabeli 0008.-2.

Tabela 0008.-2. Temperatura i zahtjevi za provodljivost

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Provodljivost ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
0	2,4
10	3,6
20	4,3
25	5,1
30	5,4
40	6,5
50	7,1
60	8,1
70	9,1
75	9,7
80	9,7
90	9,7
100	10,2

Za temperature koje nisu navedene u Tabeli 0008.-2. najveća dopuštena provodljivost izračuna se interpolacijom između susjedne niže i sljedeće više vrijednosti u tabeli.

Elementarna onečišćenja. Ako prečišćena voda na veliko ne udovoljava zahtjevu za provodljivost propisanom u monografiji *Voda za injekcije (0169) na veliko*, provodi se procjena rizika prema opštem poglavlju 5.20. *Elementarna onečišćenja*. Procjenom rizika potrebno je razmotriti ulogu vode u proizvodnom postupku, posebno u slučaju kad se voda koristi u postupku, ali nije prisutna u gotovom proizvodu.

OSOBINE

Izgled: bistra i bezbojna tekućina.

ISPITIVANJA

Nitrati: najviše 0,2 ppm.

Stavi se 5 mL u epruvetu uronjenu u ledenu vodu, doda 0,4 mL 100 g/L rastvora kalijum-hlorida R, 0,1 mL otopine difenilamina R i kap po kap, uz protresanje, 5 mL sulfatne kiseline bez nitrogena R. Epruveta se prenese u vodeno kupatilo na 50°C . Nakon 15 minuta, bilo koja plava boja u rastvoru nije intenzivnija od boje poredbenog rastvora pripremljenog istovremeno i na isti način korištenjem smjese 4,5 mL vode bez nitrata R i 0,5 mL standardni rastvor nitrata (2 ppm NO_3) R.

Aluminijum (2.4.17): najviše 10 ppb, ako je namijenjena za upotrebu u proizvodnji rastvora za dijalizu.

Propisani rastvor. U 400 mL ispitivane vode doda se 10 mL rastvora acetatnog pufera pH 6,0 R i 100 mL destilovane vode R.

Referentni rastvor. Pomiješa se 2 mL standardnog rastvora aluminijuma (2 ppm Al) R, 10 mL rastvora acetatnog pufera pH 6,0 R i 98 mL destilovane vode R.

Rastvor slijepa probe. Pomiješa se 10 mL rastvora acetatnog pufera pH 6,0 R i 100 mL destilovane vode R.

Bakterijski endotoksini (2.6.14): manje od 0,25 IU/mL, ako je namijenjena za upotrebu u proizvodnji rastvora za dijalizu, bez daljnjeg odgovarajućeg postupka za uklanjanje bakterijskih endotoksina.

OZNAČAVANJE

Na oznaci se navodi, kad je primjenjivo, da je supstanca prikladna za upotrebu u proizvodnji rastvora za dijalizu.

Prečišćena voda u spremnicima

(*Purified water in containers*)

DEFINICIJA

Prečišćena voda u spremnicima je prečišćena voda na veliko koja je napunjena i čuvana u uslovima koji osiguravaju propisan mikrobiološki kvalitet. Ne sadrži niti jednu dodanu supstancu.

OSOBINE

Izgled: bistar i bezbojan rastvor.

ISPITIVANJA

Zadovoljava ispitivanjima propisanim u odjeljku Prečišćena voda na veliko, te sljedećim dodatnim ispitivanjima.

Kiselost ili alkalnost. U 10 mL svježe prokuhane i ohlađene vode, u tikvici od borosilikatnog stakla, doda se 0,05 mL rastvora metil crveno R. Rastvor nije obojen crveno.

U 10 mL doda se 0,1 mL rastvora brotmimol plavo R1. Rastvor nije obojen plavo.

Oksidabilne supstance. U 100 mL doda se 10 mL razrijeđene sulfatne kiseline R i 0,1 mL 0,02 M kalijum permanganata i pusti se da ključa 5 min. Rastvor ostaje blijedoružičast.

Hloridi. U 10 mL doda se 1 mL diluirane nitratne kiseline R i 0,2 mL rastvora srebro nitrata R2. Rastvor ne pokazuje promjenu u izgledu najmanje 15 minuta.

Sulfati. U 10 mL doda se 0,1 mL diluirane hloridne kiseline R i 0,1 mL rastvora barijum hlorida R1. Rastvor ne pokazuje promjenu u izgledu najmanje 1 h.

Amonijak: najviše 0,2 ppm.

U 20 mL doda se 1 mL alkalnog rastvora kalijum tetrajodomerkurata R. Nakon 5 minuta, rastvor se pregleda uz okomitu osu epruvete. Rastvor nije intenzivnije boje od standarda pripremljenog istovremeno dodavanjem 1 mL alkalnog rastvora kalijum tetrajodomerkurata R u smjesu 4 mL standardnog rastvora amonijaka (1 ppm NH₄) R i 16 mL vode bez amonijaka R.

Kalcijum i magnezijum. U 100 mL doda se 2 mL rastvora pufera amonijum hlorida pH 10,0 R, 50 mg trituratata mordant crno 11 R i 0,5 mL 0,01 M natrijum edetata. Nastaje čista plava boja.

Ostatak nakon uparavanja: najviše 0,001%.


Upari se 100 mL do suha u vodenom kupatilu i osuši u sušioniku na 100–105°C. Masa ostatka je najviše 1 mg.

**Mikrobiološka čistoća**

TAMC: kriterij prihvatljivosti 10^2 CFU/mL (2.6.12). Koristi se agar od hidrolizata kazeina i soje.

OZNAČAVANJE

Na oznaci se navodi, kad je primjenjivo, da je supstanca prikladna za upotrebu u proizvodnji rastvora za dijalizu.



4

REAGENSI

4. REAGENSI

Referentni broj	CAS broj	Naziv reagensa	Naziv reagensa u Ph. Eur.	Osobine i priprema reagensa
1000400	[64-19-7]	<i>ledena acetatna kiselina R</i>	<i>acetic acid, glacial R</i>	Vidjeti Acetatna kiselina, ledena (0590).
1000402	[64-19-7]	<i>razrijeđena acetatna kiselina R</i>	<i>acetic acid, dilute</i>	Sadržaj: od 115 g/L do 125 g/L $C_2H_4O_2$ (Mr 60,1). Razrijedi se 12 g ledene acetatne kiseline R do 100 mL vodom R.
1000501	[108-24-7]	<i>otopina anhidrida acetatne kiseline R1</i>	<i>acetic anhydride solution R1</i>	Otopi se 25,0 mL anhidrida acetatne kiseline R u bezvodnom piridinu R i istim otapalom razrijedi do 100,0 mL. Čuvanje: zaštićeno od svjetlosti i zraka.
1000600	[67-64-1]	<i>acetone R</i>	<i>acetone R</i>	Vidjeti Aceton (0872).
1002500	[64-17-5]	<i>etanol (96%) R</i>	<i>ethanol (96 per cent) R</i>	Vidjeti Etanol (96%) (1317).
1002500	[64-17-5]	<i>alkohol R</i>	<i>alcohol R</i>	Vidjeti Etanol (96%) R.
1002502	[64-17-5]	<i>alkohol (X% V/V) R</i>	<i>alcohol (X% V/V) R</i>	Vidjeti Etanol (X% V/V) R.
1004700	[7664-41-7]	<i>koncentrovan rastvor amonijaka R</i>	<i>ammonia, concentrated R</i>	Rastvor amonijaka R: rastvoriti 67 g koncentrovanog amonijaka sa vodom R do ukupne zapremine 100 mL. Sadrži između 170 g/L do 180 g/L amonijaka.
1004901	[631-61-8]	<i>rastvor amonijum acetata R</i>	<i>ammonium acetate</i>	Priprema: rastvoriti 150 g amonijum acetata R sa malo vode R. Nakon rastvaranja dodati 3 mL glacijalne sirćetne kiseline i rastvor dopuniti sa vodom R do 1000 mL.
1005300	[12125-02-9]	<i>amonijev hlorid R</i>	<i>ammonium chloride R</i>	Vidjeti amonijev hlorid (0007). Rastvor amonijum hlorida (1005301): 107 g/L rastvor amonijum hlorida R.
1007100	[62-53-3]	<i>anilin R</i>	<i>aniline R</i>	Bezbojna ili blijedožućkasta tekućina, topljiva u vodi, miješa se s etanolom (96%). d_{20}^{20} : oko 1,02 Vrelište: od 183°C do 186°C. Čuvanje: zaštićeno od svjetlosti.
1012601	[76-60-8]	<i>otopina bromkrezolnog zelenila R</i>	<i>bromocresol green solution</i>	Otopi se 50 mg bromkrezolnog zelenila R u 0,72 mL 0,1 M natrijum hidroksida i 20 mL etanola (96%) R i razrijedi se do 100 mL vodom R. Ispitivanje osjetljivosti: u 0,2 mL otopine bromkrezolnog zelenila doda se 100 mL vode bez ugljikovog dioksida R. Otopina je plava. Nije potrebno više od 0,2 mL 0,02 M hloridne kiseline da bi se boja promijenila u zelenu. Promjena boje: pH 3,6 (žuto) do pH 5,2 (plavo).

Referentni broj	CAS broj	Naziv reagensa	Naziv reagensa u Ph. Eur.	Osobine i priprema reagensa
1012901	[76-59-5]	otopina bromtimolnog modrila R1	<i>bromothymol blue solution R1</i>	Otopi se 50 mg bromtimolnog modrila R u smjesi 4 mL 0,02 M natrijum hidroksida i 20 mL etanola (96%) R i razrijedi se do 100 mL vodom R. Ispitivanje osjetljivosti: u 0,3 mL otopine bromtimolnog modrila R1 doda se 100 mL vode bez ugljikovog dioksida R. Otopina je žuta. Nije potrebno više od 0,1 mL 0,1 M natrijum hidroksida da bi se boja promijenila u plavu. Promjena boje: pH 5,8 (žuto) do pH 7,4 (plavo).
1015000	[1305-62-0]	kalcijum hidroksid R	<i>calcium hydroxide</i>	Bijeli ili gotovo bijeli prašak, gotovo u potpunosti topljiv u 600 dijelova vode.
1015301	[3737-95-9]	triturat kalkonkarboksilatne kiseline R	<i>calconecarboxylic acid triturate R</i>	Priprema triturata: pomiješa se 1 dio kalkonkarboksilatne kiseline R sa 99 dijelova natrijum-hlorida R.
1017900	[302-17-0]	hloralhidrat R	<i>chloral hydrate R</i>	Vidjeti Hloral hidrat (0265).
1017901	[302-17-0]	otopina hloralhidrata R	<i>chloral hydrate solution R</i>	Otopina 80 g u 20 mL vode R.
1018600	[67-66-3]	hloroform R	<i>chloroform R</i>	Bistra, bezbojna tekućina, teško topljiva u vodi, miješa se s etanolom (96%). d_{20}^{20} : od 1,475 do 1,481. Vrelište: oko 60°C. Sadržaj etanola: 0,4% m/m do 1,0% m/m.
1021600	[7791-13-1]	kobalt hlorid R	<i>cobalt chloride</i>	Crveni kristalni prašak ili tamnocrveni kristali, vrlo lako topljivi u vodi, topljivi u etanolu (96%).
1022002	[573-58-0]	kongo crvenilo papir R	<i>congo red paper</i>	Trake filter-papira se urone u otopinu kongo crvenila R na nekoliko minuta. Ostavi se sušiti.
1022500	[7758-99-8]	bakar (II) sulfat R	<i>copper sulfate pentahydrate</i>	Plavi prašak ili tamno plavi kristali koji se polako osipaju, vrlo lako topljiv u vodi, teško topljiv u etanolu (96%).
1022901	[548-62-9]	otopina kristalvioleta R	<i>crystal violet solution R</i>	Otopi se 0,5 g kristalvioleta R u bezvodnoj acetatnoj kiselini R i razrijedi do 100 mL istim otapalom. Ispitivanje osjetljivosti: U 50 mL bezvodne acetatne kiseline R doda se 0,1 mL otopine kristalvioleta. Dodatkom 0,1 mL 0,1 M perkloratne kiseline plavo-ljubičasta otopina postane plavo-zelena.
1023900	[110-82-7]	cikloheksan R	<i>cyclohexane R</i>	Bistra, bezbojna, zapaljiva tekućina, gotovo netopljiva u vodi, miješa se s organskim otapalima. d_{20}^{20} : oko 0,78. Vrelište: oko 80,5°C. Cikloheksan koji se koristi u spektrofotometriji udovoljava sljedećem dodatnom ispitivanju: Apsorbancija (2.2.25): najviše 0,35 na 220 nm, 0,16 na 235 nm, 0,05 na 240 nm i 0,01 na 250 nm, određivano koristeći vodu R kao kompenzacijsku tekućinu.

Referentni broj	CAS broj	Naziv reagensa	Naziv reagensa u Ph. Eur.	Osobine i priprema reagensa
1032900	[1314-56-3]	<i>difosforov pentoksid R</i>	<i>diphosphorus pentoxide R</i>	Bijeli ili gotovo bijeli prašak, amorfni, apsorbira vlagu iz zraka postajući tekuć. S vodom se hidratizira razvijajući toplinu. Čuvanje: u nepropusnom spremniku.
1033901	[60-10-6]	<i>ditizon R</i>	<i>dithizone R</i>	Rastvor ditizon R: rastvoriti 0,5 g ditizona R u hloroformu R, a zatim nakon rastvaranja rastvor dopuniti sa hloroformom R do ukupne zapremine 1000 mL. Rastvor se mora koristiti svježe pripremljen.
1034800	[64-17-5]	<i>etanol R</i>	<i>ethanol R</i>	Vidjeti Etanol, bezvodni (1318).
1037800	[10025-77-1]	<i>željezo (III) hlorid</i>	<i>ferric chloride</i>	Žućkastonarančaste ili smečkaste kristalne mase, navlače vlagu iz zraka postajući tekuće, vrlo lako topljive u vodi, topljive u etanolu (96%). Izlaganjem svjetlosti željezo (III) hlorid i njegove otopine djelimično se reduciraju. Čuvanje: u nepropusnom spremniku.
1040500	[56-81-5]	<i>glicerol R</i>	<i>glycerol R</i>	Vidjeti Glicerol (0496).
1042500	[100-97-0]	<i>heksametilentetramin R</i>	<i>hexamethylenetetramine R</i>	Bezbojni, kristalni prašak, vrlo lako topljiv u vodi.
1043400	[10034-93-2]	<i>hidrazin sulfat R</i>	<i>hydrazine sulfate</i>	Bezbojni kristali, umjereno topljivi u vrućoj vodi (50°C) i lako topljivi u ključaloj vodi, gotovo netopljivi u etanolu (96%). Sadržaj: najmanje 99%.
1043500	[7647-01-0]	<i>hloridna kiselina R</i>	<i>hydrochloric acid R</i>	Vidjeti Hloridna kiselina, koncentrirana (0002).
1043800	[7722-84-1]	<i>razrijeđena otopina hidrogen peroksida R</i>	<i>hydrogen peroxide solution, dilute</i>	Vidjeti Hidrogen peroksid, otopina (3%) (0395).
1045901	[7789-33-5]	<i>jodobromidna otopina R</i>	<i>iodine bromine solution R</i>	Otopi se 20 g plavocrnih ili smeđocrnih kristala jodobromida R u ledenoj acetatnoj kiselini R i dopuni do 1000 mL istim otapalom.
1047801	[50-21-5]	<i>laktatni reagens R</i>	<i>lactic reagent R</i>	Otopina A: U 60 mL laktatne kiseline R doda se 45 mL prethodno filtrirane laktatne kiseline R zasićene bez zagrijavanja sa Sudanskim crvenilom GR; jer se laktatna kiselina polako zasićuje bez grijanja, uvijek je potreban suvišak bojila. Otopina B: Pripremi se 10 mL zasićene otopine anilina R. Filtrira se. Otopina C: 75 mg kalijevog jodida R otopi se u vodi R i istim otapalom razrijedi do 70 mL. Doda se 10 mL etanola (96%) R. Protrese se. Otopine A i B se pomiješaju. Doda im se otopina C.

Referentni broj	CAS broj	Naziv reagensa	Naziv reagensa u Ph. Eur.	Osobine i priprema reagensa
1049302	[1393-92-6]	<i>crveni lakmus papir</i>	<i>litmus paper, red</i>	U plavi ekstrakt lakmusa kapajući se dodaje razrijeđena kloridna kiselina R dok plava boja ne pređe u crvenu. Otopinom se impregniraju trake filter-papira i osuše. Ispitivanje osjetljivosti: traka veličine 10 mm puta 60 mm uroni se u smjesu 10 mL 0,02 M natrij hidroksida i 90 mL vode R. Nakon mućkanja, unutar 45 sekundi, papir poplavi.
1055102	[493-52-7]	<i>otopina metilnog crvenila R</i>	<i>methyl red solution</i>	Otopi se 50 mg u smjesi 1,86 mL 0,1 M natrijum hidroksida i 50 mL etanola (96%) R i razrijedi se do 100 mL vodom R. Ispitivanje osjetljivosti: u 0,1 mL otopine metilnog crvenila doda se 100 mL vode bez ugljikovog dioksida R i 0,05 mL 0,02 M hloridne kiseline. Otopina je crvena. Nije potrebno više od 0,1 mL 0,02 M natrijum hidroksida da bi se boja promijenila u žutu. Promjena boje: pH 4,4 (crveno) do pH 6,0 (žuto).
1056801	[1787-61-7]	<i>triturat mordant crnilo 11 R</i>	<i>mordant black 11 triturate R</i>	Pomiješa se 1 g mordant crnila 11 R sa 99 g natrijevog hlorida R.
1058400	[7697-37-2]	<i>nitratna kiselina R</i>	<i>nitric acid R</i>	Rastvor koncentrovane nitratne kiseline koja sadrži 64%–68% HNO ₃ .
1062900	[7601-90-3]	<i>perhlorna kiselina R</i>	<i>perchloric acid R</i>	Sadržaj: 70,0% m/m do 73% m/m HClO ₄ . Bistra, bezbojna tekućina, miješa se s vodom: oko 1,7. Određivanje sadržaja: u 2,50 g se doda 50 mL vode R i titrira 1 M natrijevum hidroksidom, uz 0,1 mL otopine metilnog crvenila R kao indikatora. 1 mL 1 M natrijevog hidroksida odgovara 100,5 mg HClO ₄ .
1063103	[8032-32-4]	<i>lagani petrolej R3</i>	<i>petroleum, light R3</i>	Petroleter 100–120°C. Udovoljava zahtjevima propisanim za lagani petrolej R, uz sljedeće izmjene. d_{20}^{20} : oko 0,720. Temperaturni raspon destilacije (2.2.11): od 100°C do 120°C. Voda (2.5.12): najviše 0,03%.
1063601	[143-74-8]	<i>otopina fenolnog crvenila R</i>	<i>phenol red solution</i>	Otopi se 0,1 g fenolnog crvenila R u smjesi 2,82 mL 0,1 M natrijum hidroksida i 20 mL etanola (96%) R i razrijedi se do 100 mL vodom R. Ispitivanje osjetljivosti: u 0,1 mL otopine fenolnog crvenila doda se 100 mL vode bez ugljikovog dioksida R. Otopina je žuta. Nije potrebno više od 0,1 mL 0,02 M natrijum hidroksida da bi se boja promijenila u crvenoljubičastu. Promjena boje: pH 6,8 (žuto) do pH 8,4 (crveno-ljubičasto).

Referentni broj	CAS broj	Naziv reagensa	Naziv reagensa u Ph. Eur.	Osobine i priprema reagensa
1063702	[77-09-8]	<i>otopina fenolftaleina R</i>	<i>phenolphthalein solution</i>	Otopi se 0,1 g fenolftaleina R u 80 mL etanola (96%) R i razrijedi se do 100 mL vodom R. Ispitivanje osjetljivosti: u 0,1 mL otopine fenolftaleina doda se 100 mL vode bez ugljikovog dioksida R. Otopina je bezbojna. Nije potrebno više od 0,2 mL 0,02 M natrijum hidroksida da bi se boja promijenila u ružičastu. Promjena boje: pH 8,2 (bezbojno) do pH 10,0 (crveno).
1063703	[77-09-8]	<i>otopina fenolftaleina R1</i>	<i>phenolphthalein solution R1</i>	10 g/L otopina fenolftaleina R u etanolu (96%) R.
1063704	[77-09-8]	<i>fenolftalein papir R</i>	<i>phenolphthalein paper</i>	Trake filter-papira se urone u otopinu fenolftaleina R na nekoliko minuta. Ostavi se da se osuše.
1064600	[6099-90-7]	<i>floroglucinol R</i>	<i>phloroglucinol R</i>	Bijeli ili žućkasti kristali, slabo topljivi u vodi, topljivi u etanolu (96%). Talište: oko 223°C (trenutačna metoda).
1065000	-	<i>fosfomolibdenvolframov reagens R</i>	<i>phosphomolybdotungstic reagent R</i>	100 g natrijevog volframata R i 25 g natrijevog molibdata R otopi se u 700 mL vode R. Doda se 100 mL hloridne kiseline R i 50 mL fosfatne kiseline R. Smjesa se zagrijava 10 sati pod staklenim povratnim hladilom. Doda se 150 g litijevog sulfata R, 50 mL vode R i nekoliko kapi broma R. Zakuha se kako bi se odstranio višak broma (15 minuta), ohladi se, vodom R se razrijedi do 1000 mL i filtrira. Reagens treba biti žute boje. Nije upotrebljiv ako poprimi zelenkastu nijansu, ali se može regenerirati kuhanjem s par kapi broma R. Potrebno je ukloniti višak broma kuhanjem. Čuvanje: pri 2°C–8°C.
1070300	[1310-58-3]	<i>kalijev hidroksid R</i>	<i>potassium hydroxide R</i>	Vidjeti Kalijev hidroksid (0840).
1070303	[1310-58-3]	<i>alkoholna otopina kalijevog hidroksida R</i>	<i>potassium hydroxide solution, alcoholic R</i>	Otopi se 3 g kalijevog hidroksida R i razrijedi do 100 mL alkoholom bez aldehida R. Dekantira se bistra tekućina. Tekućina treba biti gotovo bistra.
1070500	[7681-11-0]	<i>kalijev jodid R</i>	<i>potassium iodide R</i>	Vidjeti Kalijev jodid (0186).
1070502	[7681-11-0]	<i>otopina kalijevog jodida R</i>	<i>potassium iodide solution R</i>	166 g/L rastvor kalijevog jodida R.

Referentni broj	CAS broj	Naziv reagensa	Naziv reagensa u Ph. Eur.	Osobine i priprema reagensa
1070504	[7681-11-0]	<i>zasićena otopina kalijevog jodida R</i>	<i>potassium iodide solution, saturated R</i>	Zasićena otopina kalijevog jodida R u vodi bez ugljikovog dioksida R. Otopina treba biti zasićena što pokazuje prisustvo neotopljenih kristala. Ispita se tako da se u 0,5 mL zasićene otopine kalijevog jodida doda 30 mL smjese dva volumna dijela hloroforma R i tri volumna dijela ledene acetatne kiseline R kao i 0,1 mL otopine škroba R. Svako plavo obojenje može se ukloniti dodatkom 0,05 mL 0,1 M natrijevog tiosulfata. Čuvanje: zaštićeno od svjetlosti.
1072501	[123-62-6]	<i>reagens anhidrida propionske kiseline R</i>	<i>propionic anhydride reagent R</i>	Otopi se 1 g toluensulfonatne kiseline R u 30 mL ledene acetatne kiseline R, doda se 5 mL anhidrida propionske kiseline R i ostavi stajati barem 15 min. prije upotrebe. Čuvanje: iskoristiti unutar 24 h.
1073200	[110-86-1]	<i>piridin R</i>	<i>pyridine R</i>	Bistra, bezbojna tekućina, higroskopna, miješa se s vodom i s etanolom (96%). Vrelište: oko 115°C. Čuvanje: u nepropusnom spremniku.
1073700	[87-66-1]	<i>pirogalol R</i>	<i>pyrogallol R</i>	Bijeli ili gotovo bijeli kristali, izlaganjem zraku i svjetlu posmeđe, vrlo lako topljivi u vodi i u etanolu (96%), slabo topljivi u ugljikovom disulfidu. U dodiru sa zrakom vodene otopine i još brže alkalne otopine posmeđe zbog apsorpcije kisika. Talište: oko 131°C. Čuvanje: zaštićeno od svjetla.
1074200	[6119-47-7]	<i>hinin hidrohlorid R</i>	<i>quinine hydrochloride R</i>	Vidjeti Hinin hidrohlorid (0018).
1075201	[11103-72-3]	<i>otopina rutenijevog crvenila R</i>	<i>ruthenium red solution R</i>	Otopina 0,8 g/L rutenijevog crvenila R u otopini olovnog acetata R.
1076100	[112926-00-8]	<i>bezvodni silikagel</i>	<i>silica gel, anhydrous</i>	Djelomično dehidrirana, polimerizirana, amorfná silikatna kiselina, koja pri 20°C apsorbira masu vode u vrijednosti 30% vlastite težine. Gotovo netopljiva u vodi, djelomično topljiva u otopinama natrijevog hidroksida. Sadrži odgovarajući indikator za detekciju stanja vlažnosti, za koji je promjena boje iz hidratiziranog oblika u bezvodni navedena na oznaci.
1079200	[6132-02-1]	<i>natrijev karbonat R</i>	<i>sodium carbonate R</i>	Vidjeti Natrijev karbonat dekahidrat (0191).
1080600	[6381-92-6]	<i>natrijum-EDTA (R)</i>	<i>sodium edetate R</i>	Vidjeti Dinatrijev edetat (0232).
1080700	[518-47-8]	<i>natrijev fluoresceinat R</i>	<i>sodium fluoresceinate R</i>	Schultz No. 880. Colour Index No. 45350. Narančastocrveni prašak, lako topljiv u vodi. Vodena otopina intenzivno fluorescira žuto-zelenom fluorescencijom.

Referentni broj	CAS broj	Naziv reagensa	Naziv reagensa u Ph. Eur.	Osobine i priprema reagensa
1081400	[1310-73-2]	<i>natrijum hidroksid R</i>	<i>sodium hydroxide R</i>	Vidjeti Natrijum hidroksid (0677).
1084600	[10102-17-7]	<i>natrijev tiosulfat R</i>	<i>sodium thiosulfate R</i>	Vidjeti Natrijev tiosulfat (0414).
1085103	[9005-84-9]	<i>otopina škroba R</i>	<i>starch solution R</i>	<p>Tritrira se 1,0 g škroba R s 5 mL vode R i ulije se neprestano miješajući u 100 mL vode R zagrijane do vrenja koja sadrži 10 mg živinog jodida R.</p> <p>Napomena: mogu se koristiti komercijalno dostupni reagensi, uključujući otopine bez žive ili one koje sadržavaju druge konzervanse.</p> <p>Svaki put kad se reagens koristi provede se ispitivanje osjetljivosti.</p> <p>Ispitivanje osjetljivosti: u smjesu 1 mL otopine škroba i 20 mL vode R doda se oko 50 mg kalijevog jodida R i 0,05 mL otopine joda R1.</p> <p>Otopina je plava.</p>
1085105	[9005-84-9]	<i>otopina škroba R1</i>	<i>starch solution R1</i>	<p>1 g škroba R pomiješa se s malom količinom hladne vode R. Smjesa se ulije, neprestano miješajući, u 200 mL vode R zagrijane do vrenja. Doda se 0,25 g salicilatne kiseline R i kuha 3 minute. Odmah se makne s izvora topline i ohladi.</p> <p>Čuvanje: ako je potrebno duže čuvanje otopina se čuva na 4–10°C.</p> <p>Svježu otopinu škroba potrebno je prirediti kad kod završne tačke titracije prelazak boje iz plave u bezbojnu nije oštar. Kad se čuva u frižideru, otopina škroba stabilna je oko dvije do tri sedmice.</p> <p>Ispitivanje osjetljivosti: smjesa 2 mL otopine škroba R1, 20 mL vode R, oko 50 mg kalijevog jodida R i 0,05 mL otopine joda R1 je plava.</p>
1085700	[57-50-1]	<i>saharoza R</i>	<i>sucrose R</i>	Vidjeti Saharoza (0204).
1086804	[7664-93-9]	<i>razrijeđena sumporna kiselina R</i>	<i>sulfuric acid, dilute R</i>	<p>Sadrži 98 g/L H₂SO₄.</p> <p>Doda se 5,5 mL sumporne kiseline R u 60 mL vode R, ostavi se da se ohladi i razrijedi do 100 mL istim otapalom.</p> <p>Određivanje sadržaja: u tikvicu s brušenim čepom doda se 30 mL vode R, nakon toga 10,0 mL razrijeđene sumporne kiseline.</p> <p>Titrira se sa 1 M natrijum hidroksidom, uz 0,1 mL otopine metilnog crvenila R kao indikatora.</p> <p>1 mL 1 M natrijum hidroksida odgovara 49,04 mg H₂SO₄.</p>

Referentni broj	CAS broj	Naziv reagensa	Naziv reagensa u Ph. Eur.	Osobine i priprema reagensa
1090601	[76-61-9]	<i>otopina timolnog modrila R</i>	<i>thymol blue solution R</i>	Otopi se 0,1 g timolnog modrila R u smjesi 2,15 mL 0,1 M natrijum hidroksida i 20 mL etanola (96%) R i razrijedi se do 100 mL vodom R. Ispitivanje osjetljivosti: u 0,1 mL otopine timolnog modrila doda se 100 mL vode bez ugljikovog dioksida R i 0,02 mL 0,02 M natrijum hidroksida. Otopina je plava. Nije potrebno više od 0,15 mL 0,02 M hloridne kiseline da bi se boja promijenila u žutu. Promjena boje: pH 1,2 (crveno) do pH 2,8 (žuto); pH 8,0 (maslinasto zelena) do pH 9,6 (plavo).
1091300	[108-88-3]	<i>toluen R</i>	<i>toluene R</i>	Bistra, bezbojna, zapaljiva tekućina, vrlo teško topljiva u vodi, miješa se s etanolom (96%). d_{20}^{20} : od 0,865 do 0,870. Vrelište: oko 110°C.
1093400	[540-84-1]	<i>trimetilpentan R</i>	<i>trimethylpentane R</i>	Bezbojna, zapaljiva tekućina, gotovo netopljiva u vodi, topljiva u bezvodnom etanolu. d_{20}^{20} : od 0,691 do 0,696. n_D^{20} : od 1,391 do 1,393. Temperaturni raspon destilacije (2.2.11): najmanje 95% destilira između 98°C i 100°C. Trimetilpentan koji se koristi u spektrofotometriji udovoljava sljedećem dodatnom ispitivanju: Apsorbancija (2.2.25): najviše 0,01 od 250 nm do 420 nm, koristeći vodu R kao kompenzacijsku tekućinu.
1094300	[10101-89-0]	<i>natrijum fosfat dodekahidrat R</i>	<i>Trisodium phosphate dodecahydrate</i>	Bezbojni ili bijeli ili gotovo bijeli kristali, dobro topljivi u vodi.
1095500	[7732-18-5]	<i>voda R</i>	<i>water R</i>	Vidjeti Voda, pročišćena (0008).
1095500	[7732-18-5]	<i>Voda</i>	<i>Water, purified</i>	Vidjeti Voda, pročišćena (0008).
1095502	[7732-18-5]	<i>voda bez karbon dioksida R</i>	<i>water, carbon dioxide-free R</i>	Voda R koja je zagrijana do vrenja kroz nekoliko minuta i zaštićena od uticaja atmosfere za vrijeme hlađenja i čuvanja ili dejonizirana voda R s otpornošću najmanje 0,18 MΩm.
1095504	[7732-18-5]	<i>destilirana voda R</i>	<i>water, distilled R</i>	Voda R dobivena destilacijom.
1095505	[7732-18-5]	<i>Voda za injekcije</i>	<i>Water for injections</i>	Voda za injekcije namijenjena je pripremi lijekova za parenteralnu primjenu kad se koristi kao pomoćno sredstvo (voda za injekcije <i>in bulk</i>) i za otapanje ili razrjeđivanje supstanci ili preparata za parenteralnu primjenu (sterilizirana voda za injekcije).
1096200	[1330-20-7]	<i>ksilen R</i>	<i>xylene R</i>	Smjesa izomera. Bistra, bezbojna, zapaljiva tekućina, gotovo netopljiva u vodi, miješa se s etanolom (96%). d_{20}^{20} : oko 0,867. n_D^{20} : oko 1,497. Vrelište: oko 138°C.

Referentni broj	CAS broj	Naziv reagensa	Naziv reagensa u Ph. Eur.	Osobine i priprema reagensa
1096302	[3618-43-7]	<i>triturat ksilenol narandžasto R</i>	<i>xylene orange triturate R</i>	Priprema triturata: 1 dio ksilenol narandžasto R se miješa sa 99 dijelova kalijum nitrata R.
1143001	[7790-99-0]	<i>jodohloridna otopina R</i>	<i>iodine chloride solution R</i>	Otopi se 1,4 g jodhlorida R u ledenoj acetatnoj kiselini R i dopuni do 100 mL istim otapalom. Čuvanje: zaštićeno od svjetlosti.
1178900	-	<i>pH indikatorska traka R</i>	<i>pH indicator strip</i>	Papirnata ili plastična traka koja sadrži višestruke segmente različitih papirića impregniranih bojom, koji omogućavaju vizuelno određivanje pH u propisanom rasponu usporedbom odgovarajućih boja u legendi.
3001700	[7647-01-0]	<i>2 M hlorovodonična kiselina R</i>	<i>2M Hydrochloric acid</i>	Razblažiti 206,0 g hlorovodonične kiseline R do 1000,0 mL vodom R.
3002100	[7647-01-0]	<i>0,1 M hlorovodonična kiselina</i>	<i>0.1 M Hydrochloric acid</i>	1M HCl: Razblažiti 103,0 g hlorovodonične kiseline R do 1000,0 mL vodom R. 0,1M HCl: Razblažiti 100,0 mL 1 M hlorovodonične kiseline do 1000,0 mL vodom oslobođenom karbon dioksida R.
3009800	[1310-73-2]	<i>2 M natrijum hidroksid R</i>	<i>2M Sodium hydroxide</i>	Rastvoriti 84 g natrijum hidroksida R u vodi oslobođenoj karbon dioksida R i razblažiti do 1000,0 mL istim rastvaračem.

* Relativna gustoća: d_{20}^{20}

** Indeks refrakcije: n_D^{20}



5



DROGE
(naziv i definicije)

5. DROGE (naziv i definicije)

07/2015:0307 Acaciae gummi, arapska guma
Definicija droge: Na vazduhu stvrdnuti, gumeni eksudat koji prirodno curi ili se dobija incizijom stabla i grana <i>Acacia senegal</i> L. (sin. <i>Senegalia senegal</i> (L.) Britton), Fabaceae, druge vrste roda <i>Acacia</i> afričkog porijekla i <i>Acacia seyal</i> Delile.
07/2017:2432 Acanthopancis gracilistylis cortex, kora sibirskog ginsenga
Definicija droge: Osušena kora korijena <i>Eleutherococcus nodiflorus</i> (Dunn) S.Y.Hu (sin. <i>Acanthopanax gracilistylus</i> W.W.Sm.), Araliaceae, sakupljena tokom ljeta ili jeseni.
01/2019:0310 Agar, agar
Definicija droge: Polisaharidi različitih vrsta reda <i>Rhodophyceae</i> , koje uglavnom pripadaju rodu <i>Gelidium</i> . Priprema se obradom algi kipućom vodom, potom se ekstrakt filtrira dok je još vruć, koncentrira i suši.
01/2015:2147 Agni casti fructus, plod konopljike
Definicija droge: Cjeloviti, zreli, osušeni plod <i>Vitex agnus-castus</i> L., Verbenaceae; sadrži minimalno 0,08% kasticina (C ₁₉ H ₁₈ O ₈ ; Mr 374,3), u odnosu na suhu drogu.
01/2015:2309 Agni casti fructus extractum siccum, suhi ekstrakt ploda konopljike
Suhi ekstrakt dobijen iz ploda konopljike, Agni casti fructus (2147); sadrži minimalno 0,10% kasticina (C ₁₉ H ₁₈ O ₈ ; Mr 374,3), u odnosu na suhi ekstrakt.
01/2011:1587 Agrimoniae herba, zelen petrovca/turice
Definicija droge: Osušeni, vršni dijelovi u cvatu <i>Agrimonia eupatoria</i> L., Rosaceae; sadrži minimalno 2,0% tanina, računatih kao pirogalol (C ₆ H ₆ O ₃ ; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.
01/2019:2472 Akebiae caulis, stabljika akebijje
Definicija droge: Cjelovita ili fragmentirana, osušena stabljika <i>Akebia quinata</i> (Houtt.) Decne ili <i>Akebia trifoliata</i> (Thunb.) Koidz., Lardizabalaceae, ili mješavina ove dvije vrste; sadrži minimalno 0,15% oleanolne kiseline (C ₃₀ H ₄₈ O ₃ ; Mr 456,7), u odnosu na suhu drogu.
01/2018:1387 Alchemillae herba, zelen vrkute
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Alchemilla vulgaris</i> L. sensu latiore, Rosaceae; sadrži minimalno 6,0% tanina, računatih kao pirogalol (C ₆ H ₆ O ₃ ; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.
01/2015:0257 Aloe barbadensis, barbadoška aloja
Definicija droge: Koncentrirani i osušeni sekret koji curi iz listova <i>Aloe barbadensis</i> Mill., Aloeaceae; sadrži minimalno 28,0% hidroksiantracenskih derivata, računatih kao barbaloin (C ₂₁ H ₂₂ O ₉ ; Mr 418,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2017:0258 Aloe capensis, afrička aloja
Definicija droge: Koncentrirani i osušeni sekret koji curi iz listova <i>Aloe ferox</i> Mill., Aloeaceae; sadrži minimalno 18,0% hidroksiantracenskih derivata, računatih kao barbaloin (C ₂₁ H ₂₂ O ₉ ; Mr 418,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2015:0259 Aloes extractum siccum normatum, standardizirani suhi ekstrakt aloje
Standardizirani, suhi ekstrakt dobijen iz <i>Aloe barbadensis</i> (0257) ili <i>Aloe capensis</i> (0258) ili mješavine ove dvije vrste; sadrži 19,0–21,0% hidroksiantracenskih derivata, računatih kao barbaloin (C ₂₁ H ₂₂ O ₉ ; Mr 418,4), u odnosu na suhi ekstrakt.

<p>04/2014:2554 Amomi fructus, plod kličičevog papra</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani, oguljeni ili neoguljeni zreo plod <i>Amomum villosum</i> Lour. ili <i>Amomum longiligulare</i> T.L.Wu, Zingiberaceae;</p> <p>Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 30,0 mL/kg eteričnog ulja za <i>Amomum villosum</i> Lour., u odnosu na anhidrovanu drogu i minimalno 10,0 mL/kg eteričnog ulja za <i>Amomum longiligulare</i> T.L.Wu., u odnosu na anhidrovanu drogu. • minimalno 30,0% bornil-acetata (C₁₂H₂₀O₂; Mr 196,3) u eteričnom ulju.
<p>04/2017:2712 Andrographidis herba, zelen kineskog andrografisa</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani vršni dijelovi u cvatu i/ili nadzemni dijelovi koji nose plodove <i>Andrographis paniculata</i> (Burm.f.) Nees., Acanthaceae; sadrži minimalno 0,80% sume andrografolida (C₂₀H₃₀O₅; Mr 350,4) i 14-deoksi-11,12-didehidroandrografolida (C₂₀H₂₈O₄; Mr 332,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2016:2661 Anemarrhenae asphodeloides rhizoma, rizom anemarene</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani, oguljeni ili neoguljeni rizom <i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge, Asparagaceae, oslobođen korijenja, sakupljen u proljeće ili jesen; sadrži minimalno 0,5% mangiferina (C₁₉H₁₈O₁₁; Mr 422,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2013:1857 Angelicae archangelicae radix, korijen anđelike</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, pažljivo osušeni rizom sa korijenjem <i>Angelica archangelica</i> L. (sin. <i>A. officinalis</i> Hoffm.), Apiaceae; sadrži minimalno 2,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2018:2556 Angelicae dahuricae radix, korijen anđelike</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani korijen, oslobođen sitnog korijenja <i>Angelica dahurica</i> (Hoffm.), Apiaceae sakupljen u ljeto ili jesen; sadrži minimalno 0,08% imperatorina (C₁₆H₁₄O₄; Mr 270,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2018:2557 Angelicae pubescentis radix, korijen anđelike</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani korijen, oslobođen sitnog korijenja <i>Angelica biserrata</i> (R. H. Shan & C. Q. Yuan) C. Q. Yuan & R. H. Shan (sin. <i>Angelica pubescens</i> Maxim. f. <i>biserrata</i> R. H. Shan & C. Q. Yuan), Apiaceae, sakupljen u rano proljeće prije vegetacijske sezone ili u kasnu jesen kada se stabljika i listovi osuše.</p>
<p>04/2017:2558 Angelicae sinensis radix, korijen kineske anđelike</p> <p>Definicija droge: Osušen na dimu, cjeloviti ili fragmentirani korijen <i>Angelica sinensis</i> Oliv., Apiaceae, oslobođen sitnog korijenja, sakupljen u kasnu jesen; sadrži minimalno 0,05% trans-ferulične kiseline (C₁₀H₁₀O₄; Mr 194,2), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2018:0804 Anisi aetheroleum, eterično ulje anisa</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz suhих, zrelih plodova <i>Pimpinella anisum</i> L., Apiaceae.</p>
<p>07/2017:0262 Anisi fructus, plod anisa</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti, osušeni plod <i>Pimpinella anisum</i> L., Apiaceae; sadrži minimalno 20,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu.</p>
<p>01/2012:1391 Arnicae flos, cvijet brđanke/arnike</p> <p>Definicija droge: Cjelovite ili djelomično izlomljene, osušene cvjetne glavice <i>Arnica montana</i> L., Asteraceae; sadrži minimalno 0,4% m/m ukupnih seskviterpenskih laktona, računatih kao dihidrohelenalin-tiglat, u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2018:1809 Arnicae tinctura, tinktura brđanke/arnike</p> <p>Tinktura izrađena od cvijeta arnike, Arnicae flos (1391); sadrži minimalno 0,04% m/m ukupnih seskviterpenskih laktona, računatih kao dihidrohelenalin-tiglat (C₂₀H₂₆O₅; Mr 346,42).</p>

<p>04/2018:1866 Cynarae folium, list artičoke</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni list <i>Cynara cardunculus</i> L. (sin. <i>Cynara scolymus</i> L.), Asteraceae; sadrži minimalno 0,7% hlorogenske kiseline (C₁₆H₁₈O₉; Mr 354,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>04/2018:2389 Cynarae folii extractum siccum, suhi ekstrakt lista artičoke</p> <p>Suhi ekstrakt dobijen iz lista artičoke, <i>Cynarae folium</i> (1866); sadrži minimalno 0,6% hlorogenske kiseline (C₁₆H₁₈O₉; Mr 354,3), u odnosu na suhi ekstrakt.</p>
<p>07/2012:1600 Fraxini folium, list jasena</p> <p>Definicija droge: Osušeni list <i>Fraxinus excelsior</i> L. ili <i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl. (sin. <i>Fraxinus oxyphylla</i> M. Bieb), Oleaceae, ili hibridi navedenih vrsta ili mješavina navedenih vrsta; sadrži minimalno 2,5% ukupnih derivata hidroksicinamične kiseline, računatih kao hlorogenska kiselina (C₁₆H₁₈O₉, Mr 354,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2017:2435 Astragali mongholicus radix, korijen astragalusa</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni korijen <i>Astragalus mongholicus</i> Bunge, Fabaceae, oslobođen sekundarnog korijenja i korijenove kape; sadrži minimalno 0,04% astragalozida IV (C₄₁H₆₈O₁₄; Mr 785,0), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2012:2559 Atractylodis lanceae rhizoma</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani rizom <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC. (sin. <i>Atractylodes chinensis</i> (Bunge) Koidz), Asteraceae, oslobođen korijenja, sakupljen u proljeće i jesen; sadrži minimalno 14,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu.</p>
<p>07/2012:2560 Atractylodis macrocephalae rhizoma</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani rizom <i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz, Asteraceae, oslobođen korijenja, sakupljen tokom zime kada donji listovi biljke postanu žuti, a gornji listovi postanu lomljivi; sadrži minimalno 9,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu.</p>
<p>07/2017:1797 Aucklandiae radix</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani korijen <i>Saussurea costus</i> (Falc.) Lipsch. (sin. <i>Saussurea lappa</i> C.B. Clarke, <i>Aucklandia lappa</i> Decne., <i>Aucklandia costus</i> Falc.), Compositae, sakupljen u zimu i proljeće i oslobođen sitnog korijenja; sadrži minimalno 0,6% kostunolida (C₁₅H₂₀O₂; Mr 232,3) i minimalno 1,8% sume kostunolida i dehidrokostus laktona (C₁₅H₁₈O₂; Mr 230,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>04/2011:2438 Scutellariae baicalensis radix</p> <p>Definicija droge: Osušeni, oguljeni i obično fragmentirani korijen <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi, Lamiaceae, oslobođen sitnog korijenja, sakupljen tokom proljeća ili jeseni; sadrži ne manje od 9,0% baikalina (C₂₁H₁₈O₁₁; Mr 446,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2018:2612 Lycii fructus, plod običnog vučaca</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti, zreli plod <i>Lycium barbarum</i> L., Solanaceae.</p>
<p>07/2013:1054 Uvae ursi folium, list uve</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni list <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> (L.) Spreng, Ericaceae; sadrži minimalno 7,0% anhidrovanog arbutina (C₁₂H₁₆O₇; Mr 272,3) u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2014:2561 Belamcandae chinensis rhizoma</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani rizom <i>Iris domestica</i> (L.) Goldblatt et Mabb. (sin. <i>Belamvcanda chinensis</i> (L.) DC.), Iridaceae, sakupljen u rano proljeće, za vrijeme pupanja biljke ili u kasnu jesen kada vršni dijelovi opadaju i oslobođen korijenja; sadrži minimalno 0,10% irisflorentina (C₂₀H₁₈O₈; Mr 386,4), u odnosu na suhu drogu.</p>

<p>01/2012:0221 Belladonnae folium, list velebilja</p> <p>Definicija droge: Osušeni listovi ili osušeni listovi sa vršnim dijelovima biljke u cvatu i vršnim dijelovima koji nose plodove <i>Atropa belladonna</i> L., Solanaceae; sadrži minimalno 0,3% ukupnih alkaloida, računatih kao hiosciamin ($C_{17}H_{23}NO_3$; Mr 289,4), u odnosu na suhu drogu. Najveći udio u ukupnom sadržaju alkaloida čini hiosciamin, zajedno sa malom količinom hioscina (skopolamin).</p>
<p>07/2015:1294 Belladonnae folii extractum siccum normatum, standardizirani suhi ekstrakt lista velebilja</p> <p>Standardizirani suhi ekstrakt dobijen iz lista velebilja, <i>Belladonnae folium</i> (0221); sadrži 0,95–1,05% ukupnih alkaloida, računatih kao hiosciamin ($C_{17}H_{23}NO_3$; Mr 289,4), u odnosu na suhi ekstrakt.</p>
<p>01/2008:1812 Belladonnae folii tinctura normata, standarizirana tinktura lista velebilja</p> <p>Tinktura izrađena od lista velebilja, <i>Belladonnae folium</i> (0221); sadrži 0,027–0,033% ukupnih alkaloida, računatih kao hiosciamin ($C_{17}H_{23}NO_3$; Mr 289,4), u odnosu na suhi ekstrakt. Najveći udio u ukupnom sadržaju alkaloida čini hiosciamin, zajedno sa malom količinom hioscina (skopolamin).</p>
<p>01/2008:0222 Belladonnae pulvis normatus, standardizirani prašak lista velebilja</p> <p>Standardizirani prašak lista velebilja (180) (2.9.12) modificiran, ukoliko je neophodno, dodatkom laktoze u formi pulvisa, ili pulvisa lista velebilja sa nižim sadržajem alkaloida; sadrži 0,28–0,32% ukupnih alkaloida, računatih kao hiosciamin (Mr 289,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2016:2158 Benzoe tonkinensis, sijamski benzoin</p> <p>Definicija droge: Smola dobijena zarezivanjem stabla <i>Styrax tonkinensis</i> (Pierre) Craib ex Hartwich, Styracaceae; sadrži 35,0–55,0% ukupnih kiselina, računatih kao benzojeva kiselina ($C_7H_6O_2$; Mr 122,1), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2008:1814 Benzoe sumatranus, sumatranski benzoin</p> <p>Definicija droge: Smola dobijena zarezivanjem stabla <i>Styrax benzoin</i> Dryander, Styracaceae; sadrži 25,0–50,0% ukupnih kiselina, računatih kao benzojeva kiselina ($C_7H_6O_2$; Mr 122,1), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2008:2157 Siam Benzoiis tonkinensis tinctura, tinktura sijamskog benzoina</p> <p>Tinktura izrađena od sijamskog benzoina, <i>Benzoe tonkinensis</i> (2158); sadrži minimalno 5,0% m/m ukupnih kiselina, računatih kao benzojeva kiselina ($C_7H_6O_2$; Mr 122,1).</p>
<p>01/2018:1813 Sumatra Benzoiis sumatrani tinctura, tinktura sumatranskog benzoina</p> <p>Tinktura izrađena od sumatranskog benzoina, <i>Benzoe sumatranus</i> (1814); sadrži minimalno 4,0% m/m ukupnih kiselina, računatih kao benzojeva kiselina ($C_7H_6O_2$; Mr 122,1).</p>
<p>01/2019:1588 Myrtilli fructus siccus, suhi plod borovnice</p> <p>Definicija droge: Osušeni, zreli plod <i>Vaccinium myrtillus</i> L., Ericaceae; sadrži minimalno 1,0% tanina, računatih kao pirogalol ($C_6H_6O_3$; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2019:1602 Myrtilli fructus recens, svježi plod borovnice</p> <p>Definicija droge: Svježi ili zamrznuti, zreli plod <i>Vaccinium myrtillus</i> L., Ericaceae; sadrži minimalno 0,30% antocijana, računatih kao cijanid 3-O-glukozid hlorid (hrizantemin, $C_{21}H_{21}ClO_{11}$; Mr 484,8), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2017:1174 Betulae folium, list breze</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni listovi <i>Betula pendula</i> Roth i/ili <i>Betula pubescens</i> Ehrh., Betulaceae kao i hibridi pomenutih vrsta; sadrži minimalno 1,5% flavonoida, računatih kao hiperozid ($C_{21}H_{20}O_{12}$; Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2014:2384 Bistortae rhizoma, rizom malog srčenjaka</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni rizom <i>Persicaria bistorta</i> (L.) Samp. (sin. <i>Polygonum bistorta</i> L.), Polygonaceae, oslobođen adventivnog korijenja; sadrži minimalno 3,0% tanina, računatih kao pirogalol ($C_6H_6O_3$; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.</p>

01/2008:1826 Foeniculi amari fructus aetheroleum, eterično ulje ploda gorkog komorača
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz zrelih plodova <i>Foeniculum vulgare</i> Miller, ssp. <i>vulgare</i> var. <i>vulgare.</i> , Apiaceae; sadržaj fenhona 12,0–25,0%, trans-anetola 55,0–75,0%.
07/2019:2380 Foeniculi amari herbae aetheroleum, eterično ulje zeleni gorkog komorača
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz nadzemnih dijelova <i>Foeniculum vulgare</i> Miller, ssp. <i>vulgare</i> var. <i>vulgare.</i> , Apiaceae, sakupljenih tokom plodonošenja.
07/2015:1603 Aurantii amari epicarpium et mesocarpium, epikarp i mezokarp gorke narandže
Definicija droge: Osušeni epikarp i mezokarp zrelog ploda <i>Citrus aurantium</i> L. ssp. <i>aurantium</i> (<i>C. aurantium</i> L. ssp. <i>amara</i> Engl.), Rutaceae, djelomično oslobođen albeda epikarpa i mezokarpa; sadrži minimalno 20,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu.
01/2012:1810 Aurantii amari flos, cvijet gorke narandže
Definicija droge: Cjeloviti, osušeni, neotvoreni cvijet <i>Citrus aurantium</i> L. ssp. <i>aurantium</i> (<i>C. aurantium</i> L. ssp. <i>amara</i> Engl.), Rutaceae; sadrži minimalno 8,0% ukupnih flavonoida, računatih kao naringin ($C_{27}H_{32}O_{14}$; Mr 580,5), u odnosu na suhu drogu.
01/2008:1604 Aurantii amari epicarpium et mesocarpium tinctura, tinktura epikarpa i mezokarpa gorke narandže
Tinktura izrađena od epikarpa i mezokarpa gorke narandže, Aurantii amari epicarpium et mesocarpium (1603).
04/2014:2069 Cimicifugae rhizome, rizom cimicifuge
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani rizom sa korijenom <i>Actaea racemosa</i> L. (sin. <i>Cimicifuga racemosa</i> (L.) Nutt.), Ranunculaceae; sadrži minimalno 1,0% triterpenskih glikozida, računatih kao monoamonijum glicirizat ($C_{42}H_{65}NO_{16}$; Mr 840,0), u odnosu na suhu drogu.
07/2011:1858 Ballotae nigrae herba, zelen crne koprive
Definicija droge: Osušeni, vršni dijelovi u cvatu <i>Ballota nigra</i> L., Lamiaceae; sadrži minimalno 1,5% ukupnih derivata orto-dihidroksicinamične kiseline, računatih kao akteoizid ($C_{29}H_{36}O_{15}$; Mr 625,0), u odnosu na suhu drogu.
07/2013:2528 Ribis nigri folium, list crne ribizle
Definicija droge: Osušeni list <i>Ribes nigrum</i> L., Grossulariaceae; sadrži 1,0% flavonoida, računatih kao izokvercetin ($C_{21}H_{20}O_{12}$; Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2008:1605 Menyanthidis trifoliatae folium, list gorke djeteline
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani list <i>Menyanthes trifoliata</i> L., Menyanthaceae.
04/2016:1396 Boldi folium, list boldovca
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani list boldovca <i>Peumus boldus</i> Molina, Monimiaceae; sadrži minimalno 0,1% ukupnih alkaloida, računatih kao boldin ($C_{19}H_{21}NO_4$; Mr 327,4), u odnosu na anhidrovanu drogu.
04/2016:1816 Boldi folii extractum siccum, suhi ekstrakt lista boldovca
Suhi ekstrakt dobijen iz lista boldovca, Boldi folium (1396); Propisani sadržaj:
<ul style="list-style-type: none"> • za vodene ekstrakte, minimalno 0,1% ukupnih alkaloida, računatih kao boldin ($C_{19}H_{21}NO_4$; Mr 327,4), u odnosu na anhidrovani ekstrakt. • za vodeno-alkoholne ekstrakte, minimalno 0,2% ukupnih alkaloida, računatih kao boldin ($C_{19}H_{21}NO_4$; Mr 327,4), u odnosu na anhidrovani ekstrakt.
07/2013:2184 Fagopyri herba, zelen heljde
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, nadzemni dijelovi <i>Fagopyrum esculentum</i> Moench, Polygonaceae, sakupljeni u ranom periodu cvjetanja, prije samog sazrijevanja i odmah osušeni; sadrži minimalno 3,0% rutina ($C_{27}H_{30}O_{16}$; Mr 611,0), u odnosu na suhu drogu.

04/2018:2562 Bupleuri radix, korijen zvinčca
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani korijen <i>Bupleurum chinense</i> DC., <i>Bupleurum scorzoniferolium</i> Willd., Apiaceae; sadrži minimalno 0,16% saikosaponina A (C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃ ; Mr 781,0), u odnosu na suhu drogu.
01/2017:1847 Rusci rhizoma, rizom veprine
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani podzemni organi <i>Ruscus aculeatus</i> L., Asparagaceae; sadrži minimalno 1,0% ukupnih sapogenina, računatih kao ruskogenin [mješavina neoruskogenina (C ₂₇ H ₄₀ O ₄ ; Mr 428,6) i ruskogenina (C ₂₇ H ₄₂ O ₄ ; Mr 430,6)], u odnosu na suhu drogu.
01/2011:1297 Calendulae flos, cvijet nevena
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni i potpuno otvoreni cvjetovi, odvojeni od kultiviranih dvocvjetnih varijeteta <i>Calendula officinalis</i> L., Asteraceae; sadrži minimalno 0,4% flavonoida, računatih kao hiperozid (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ ; Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2017:2565 Gardeniae fructus, plod gardenije
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, zreli plod <i>Gardenia jasminoides</i> J. Ellis, Rubiaceae, oslobođen stabljike, tretiran parom ili ključalom vodom, a potom osušen; sadrži minimalno 2,0% genipozida (C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀ ; Mr 388,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2014:1859 Capsici fructus, plod paprike
Definicija droge: Zreli, osušeni plodovi <i>Capsicum annum</i> L. var. <i>minimum</i> (Miller) Heiser i varijeteti sa malim plodovima <i>Capsicum frutescens</i> L., Solanaceae; sadrži minimalno 0,4% ukupnih kapsaicinoida, računatih kao kapsaicin (C ₁₈ H ₂₇ NO ₃ ; Mr 305,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2014:2336 Capsici oleoresina raffinata et normata, prečišćena i standardizirana uljna smola paprika
Rafinirani i standardizirani oleoresini dobijeni iz ploda paprike, Capsici fructus (1859); sadrži 12,0–18,0% m/m ukupnih kapsaicinoida, računatih kao kapsaicin (C ₁₈ H ₂₇ NO ₃ ; Mr 305,4).
01/2014:2529 Capsici extractum spissum normatum, standardizirani polučvrsti ekstrakt paprike
Standardizirani meki ekstrakt dobijen iz ploda paprike, Capsici fructus (1859); sadrži 2,0–2,4% ukupnih kapsaicinoida, računatih kao kapsaicin (C ₁₈ H ₂₇ NO ₃ ; Mr 305,4).
01/2014:2337 Capsici tinctura normata, standardizirana tinktura paprike
Standardizirana tinktura dobijena od ploda paprike, Capsici fructus (1859) ili prečišćenog i standardiziranog oleoresina paprike, Capsici oleoresina raffinata et normata (2336); sadrži 90,0–110,0% nominalnog sadržaja ukupnih kapsaicinoida, izraženih kao kapsaicin (C ₁₈ H ₂₇ NO ₃ ; Mr 305,4), što je između 0,02% m/m i 0,06% m/m.
01/2008:1080 Carvi fructus, plod kima
Definicija droge: Cjeloviti, osušeni merikarp <i>Carum carvi</i> L., Apiaceae; sadrži minimalno 30,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu.
01/2008:1817 Carvi aetheroleum, eterično ulje kima
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz osušenih plodova <i>Carum carvi</i> L., Apiaceae.
04/2011:0105 Rhamni purshianae cortex, kora američke krkovine
Definicija droge: Osušena, cjelovita ili fragmentirana kora <i>Rhamnus purshiana</i> DC. (sin. <i>Frangula purshiana</i> (DC.) A. Gray, Rhamnaceae; sadrži minimalno 8,0% hidroksiantracenskih glikozida, od kojih najmanje 60,0% kaskarozida, oba računata kao kaskarozid A (C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄ ; Mr 580,5), u odnosu na suhu drogu.
01/2017:1844 Rhamni purshianae extractum siccum normatum, standardizirani suhi ekstrakt američke krkovine
Standardizirani suhi ekstrakt dobijen iz kore američke krkovine, Rhamni purshianae cortex (0105); Propisani sadržaj:
<ul style="list-style-type: none"> • 8,0–25,0% m/m hidroksiantracenskih glikozida, računatih kao kaskarozid A (C₂₇H₃₂O₁₄; Mr 580,5), u odnosu na suhi ekstrakt i 90,0–110,0% od nominalnog sadržaja; • minimalno 60,0% kaskarozida, računatih kao kaskarozid A (C₂₇H₃₂O₁₄; Mr 580,5), od ukupnih hidroksiantracenskih glikozida.

01/2008:1496 Cinnamomi cassiae aetheroleum, eterično ulje kineskog cimeta
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz listova i mladih grana <i>Cinnamomum cassia</i> Blume (<i>C. aromaticum</i> Nees), Lauraceae.
01/2008:1301 Centaurii herba, zelen kičice/gorčice
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Centaurium erythraea</i> Rafn s. l., uključujući <i>C. majus</i> (H. et L.) Zeltner i <i>C. suffruticosum</i> (Griseb.) Ronn. (sin. <i>Erythraea centaurium</i> Persoon; <i>C. umbellatum</i> Gilibert; <i>C. minus</i> Gars.), Gentianaceae.
01/2016:1498 Centellae asiaticae herba, zelen centele/gotu kole
Definicija droge: Osušeni, fragmentirani nadzemni dijelovi <i>Centella asiatica</i> (L.) Urb., Apiaceae; sadrži minimalno 6,0% ukupnih triterpenskih derivata, računato kao aziatikozid ($C_{48}H_{78}O_{19}$; Mr 959,0), u odnosu na suhu drogu.
01/2017:0380 Chamomillae romanae flos, cvijet rimske kamilice
Definicija droge: Osušena cvjetna glavica gajenog dvostrukog varijeteta <i>Chamaemellum nobile</i> (L.) All. (<i>Anthemis nobilis</i> L.), Asteraceae; sadrži minimalno 7,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na suhu drogu.
04/2017:2715 Coptidis rhizoma, rizom kineskog koptisa
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni rizom <i>Coptis chinensis</i> Franch., <i>Coptis deltoidea</i> C. Y. Cheng & P. K. Hsiao i/ili <i>Coptis teeta</i> Wall., Ranunculaceae, oslobođen korijenja, sakupljen tokom jeseni; sadrži minimalno 5,0% berberina ($C_{20}H_{18}NO_4^+$; Mr 336,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2001:0174 Cinchonae cortex, kora kininovca
Definicija droge: Cjelovita ili sječena, osušena kora <i>Cinchona pubescens</i> Vahl (<i>Cinchona succirubra</i> Pav.), <i>Cinchona calisaya</i> Wedd., <i>Cinchona ledgeriana</i> Moens ex Trimen, Rubiaceae, ili kora njihovih varijeteta i hibrida; sadrži minimalno 6,5% ukupnih alkaloida, od kojih 30,0–60,0% čine kinin-tip alkaloidi, u odnosu na suhu drogu.
01/2008:1818 Cinchonae extractum fluidum normatum, standardizirani tečni ekstrakt kininovca
Tečni ekstrakt dobijen iz kore kininovca, <i>Cinchonae cortex</i> (0174); sadrži minimalno 4,0% i maksimalno 5,0% ukupnih alkaloida, od kojih 30–60% čine alkaloidi tipa kinina ($C_{20}H_{24}N_2O_2$; Mr 324,4).
04/2011:0387 Cinnamomi cortex, kora cimeta
Definicija droge: Osušena kora, oslobođena od vanjskog pluta i parenhima <i>Cinnamomum verum</i> J. Presl., Lauraceae, sa izdanaka izraslih na odrezanom stablu; sadrži minimalno 12,0 mL/kg eteričnog ulja.
04/2011:1501 Cinnamomi zeylanici corticis aetheroleum, eterično ulje kore cejlonskog cimeta
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom kore izdanka <i>Cinnamomum verum</i> J. Presl., Lauraceae.
01/2008:1608 Cinnamomi zeylanici folii aetheroleum, eterično ulje listova cejlonskog cimeta
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom listova <i>Cinnamomum verum</i> J. S. Presl., Lauraceae.
01/2008:1609 Citronellae aetheroleum, eterično ulje javanske citronele
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom svježih ili djelimično osušenih vršnih dijelova <i>Cymbopogon winterianus</i> Jowitt., Poaceae.
01/2008:1850 Salviae sclareae aetheroleum, eterično ulje muškatne kadulje
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom svježih ili osušenih stabljika u cvatu <i>Salvia sclarea</i> L., Lamiaceae.
01/2018:2463 Clematidis armandii caulis, stabljika klematisa/pavitine
Definicija droge: Cjelovita ili fragmentirana, osušena stabljika <i>Clematis armandii</i> Franch., Ranunculaceae, oslobođena pluta, sakupljena u proljeće ili jesen; sadrži minimalno 0,3% oleanolne kiseline ($C_{30}H_{48}O_3$; Mr 456,7), u odnosu na suhu drogu.

01/2021:0376 Caryophylli flos, cvijet klinčića/karanfilica
Definicija droge: Cjeloviti, cvjetni pupoljci <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. i L. M. Perry (sin. <i>Eugenia caryophyllus</i> (Spreng.) Bullock et S. G. Harrison), Myrtaceae, sušeni dok ne postanu crvenkasto-smeđi; sadrži minimalno 150,0 mL/kg eteričnog ulja.
01/2008:1091 Caryophylli floris aetheroleum, eterično ulje cvijeta klinčića/karanfilica
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz osušenih cvjetnih pupova <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. i L. M. Perry (sin. <i>Eugenia caryophyllus</i> (Spreng.) Bullock i S. G. Harrison), Myrtaceae.
01/2017:2714 Codonopsis radix, korijen kodonopsisa
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani osušeni korijen <i>Codonopsis pilosula</i> (Franch.) Nannf, Campanulaceae, sakupljen u jesen.
07/2017:2454 Coicis semen, sjeme jobovih suza
Definicija droge: Osušeno, zrelo zrno / sjeme, oslobođeno ljuske <i>Coix lacryma-jobi</i> L. subsp. <i>ma-yuen</i> (Rom. Caill.) T. Koyama, Poaceae; sadrži minimalno 0,50% trioleina ($C_{57}H_{104}O_6$; Mr 885,0), u odnosu na suhu drogu.
01/2018:1504 Colae semen, sjeme kole
Definicija droge: Cjelovito ili fragmentirano, osušeno sjeme, oslobođeno ovojnice <i>Cola nitida</i> (Vent.) Schott et Endl. (<i>C. vera</i> K. Schum.) i njegovih varijeteta, kao i <i>Cola acuminata</i> (P. Beauv.) Schott et Endl. (<i>Sterculia acuminata</i> P. Beauv.), Sterculiaceae; sadrži minimalno 1,5% kafeina (Mr 194,2), u odnosu na suhu drogu.
01/2018:1862 Colophonium, kolofonij
Definicija droge: Ostatak nakon destilacije hlapivog ulja iz oleorezine dobijenog iz različitih biljnih vrsta roda <i>Pinusa</i> .
01/2017:2439 Prunellae spica, plod-šiljak obične celiščice
Definicija droge: Osušeni plod-šiljak <i>Prunella vulgaris</i> L., Lamiaceae; sadrži minimalno 0,12% ukupne oleanolne kiseline ($C_{30}H_{48}O_3$, Mr 456,7) i ursolne kiseline ($C_{30}H_{48}O_3$, Mr 456,7), računate kao ursolna kiselina, od toga ne manje od 70,0% sadržaja čini ursolna kiselina, u odnosu na suhu drogu.
07/2014:1304 Coriandri fructus, plod korijandera
Definicija droge: Osušeni kremokarp <i>Coriandrum sativum</i> L., Apiaceae; sadrži minimalno 3,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na suhu drogu.
07/2014:1820 Coriandri aetheroleum, eterično ulje korijandera
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz plodova <i>Coriandrum sativum</i> L., Apiaceae.
04/2011:1306 Graminis rhizoma, rizom pirevine
Definicija droge: Cjelovit ili sječen, opran i osušen rizom <i>Agropyron repens</i> (L.) P. Beauv. (<i>Elymus repens</i> (L.) Gould), Poaceae, oslobođen adventivnog korijenja.
07/2012:1851 Taraxaci officinalis herba cum radice, zelen maslačka sa korijenjem
Definicija droge: Mješavina cjelovitih ili fragmentiranih, osušenih podzemnih i nadzemnih dijelova <i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg., Asteraceae.
01/2011:1852 Taraxaci officinalis radix, korijen maslačka
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni podzemni dijelovi <i>Taraxacum officinale</i> F. H. Wigg., Asteraceae.
01/2018:1871 Harpagophyti extractum siccum, suhi ekstrakt đavolje kandže
Suhi ekstrakt dobijen iz korijena đavolje kandže, <i>Harpagophyti radix</i> (1095), Pedaliaceae; sadrži minimalno 1,5% harpagozida ($C_{24}H_{30}O_{11}$; Mr 494,5), u odnosu na suhi ekstrakt.

07/2013:0117 Digitalis purpureae folium, list crvenog naprstka/pustikare
Definicija droge: Osušeni list <i>Digitalis purpurea</i> L., Scrophulariaceae; sadrži minimalno 0,3% kardenolidnih glikozida, računatih kao digitoksin ($C_{27}H_{42}O_3$; Mr 765,0), u odnosu na suhu drogu.
04/2017:2890 Dioscoreae nipponicae rhizoma, rizom dioskoreje
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani, oguljeni rizom <i>Dioscorea nipponica</i> Makino, Dioscoreaceae, oslobođen korijenja; sadrži minimalno 1,0% diosgenina ($C_{27}H_{42}O_3$; Mr 414,6), u odnosu na suhu drogu.
07/2016:2473 Dioscoreae oppositifoliae rhizoma, rizom dioskoreje
Definicija droge: Osušeni, oguljeni, cjelovit ili fragmentiran rizom <i>Dioscorea oppositifolia</i> L., (sin. <i>Dioscorea opposita</i> Thunb.), Dioscoreaceae, oslobođen korijenja, sakupljen u zimu kada su stabljika i listovi uvenuli.
01/2018:1510 Rosae pseudo-fructus, plod / pseudoplod divlje ruže/šipurka
Definicija droge: Plod/pseudoplod sa cvjetištem i ostacima osušenih čašičnih listića <i>Rosa canina</i> L., <i>R. pendulina</i> L., Rosaceae i ostale vrste roda <i>Rosa</i> , oslobođen akenija; sadrži minimalno 0,3% aksorbinske kiseline ($C_6H_8O_6$; Mr 176,1), u odnosu na suhu drogu.
07/2017:2563 Drynariae rhizoma, rizom drinarije
Definicija droge: Osušeni rizom <i>Drynaria fortune</i> (Kunze) J. Sm., Polypodiaceae, može biti uklonjen; sadrži minimalno 0,5% naringina ($C_{27}H_{32}O_{14}$; Mr 580, 5), u odnosu na suhu drogu.
01/2008:2377 Pini pumilionis aetheroleum, eterično ulje planinskog bora
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz svježih listova i grančica koje nose listove <i>Pinus mugo</i> Turra, Pinaceae. Pogodan antioksidans može biti dodan.
07/2017:2564 Eclipteae herba, zelen eklipte
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani vršni dijelovi u cvatu <i>Eclipta prostrata</i> (L.) L., Compositae; sadrži minimalno 0,04% vedelolaktone ($C_{16}H_{10}O_7$; Mr 314,2), u odnosu na suhu drogu.
01/2013:1217 Sambuci flos, cvijet zove
Definicija droge: Osušeni cvjetovi <i>Sambucus nigra</i> L., Sambucaceae; sadrži minimalno 0,8% flavonoida, računatih kao izokvercetrozid ($C_{21}H_{20}O_{12}$; Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2018:1419 Eleutherococci radix, korijen sibirskog ginsenga
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili sječeni podzemni organi <i>Eleutherococcus senticosus</i> (Rupr. et Maxim.) Maxim., Araliaceae; sadrži minimalno 0,08% sume eleuterozida B (Mr 372,4) i eleuterozida E (Mr 742,7).
07/2016:2451 Ephedrae herba, zelen efedre/kositernice
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni sterilni nadzemni dijelovi <i>Ephedra sinica</i> Stapf, <i>Ephedra intermedia</i> Schrenk i C. A. Mey. ili <i>Ephedra equisetina</i> Bunge, Ephedraceae ili mješavina navedenih vrsta; sadrži minimalno 1,0% efedrina ($C_{10}H_{15}NO$; Mr 165,2), u odnosu na suhu drogu.
04/2012:1825 Equiseti herba, zelen preslice/rastavića
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni sterilni nadzemni dijelovi <i>Equisetum arvense</i> L., Equisetaceae; sadrži minimalno 0,3% ukupnih flavonoida, računatih kao izokvercetrozid ($C_{21}H_{20}O_{12}$; Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.
07/2014:1320 Eucalypti folium, list eukaliptusa
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni listovi sa starijih grana <i>Eucalyptus globulus</i> Labill., Myrtaceae; Propisani sadržaj eteričnog ulja: <ul style="list-style-type: none"> • za cjelovitu drogu, minimalno 20,0 mL/kg, u odnosu na anhidrovanu drogu; • za sječenu drogu, minimalno 15,0 mL/kg, u odnosu na anhidrovanu drogu.

<p>07/2010:0390 Eucalypti aetheroleum, eterično ulje eukaliptusa</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom i rektifikacijom iz svježeg lišća ili svježih terminalnih grančica različitih vrsta roda <i>Eucalyptus</i>, bogatih 1,8–cineolom. Vrste koje se uglavnom koriste su <i>Eucalyptus globulus</i> Labill., <i>Eucalyptus polybractea</i> R. T. Baker i <i>Eucalyptus smithii</i> R. T. Baker.</p>
<p>07/2017:2412 Eucommiae cortex, kora eukomije</p> <p>Definicija droge: Cjelovita ili fragmentirana, oguljena i osušena kora stabljike <i>Eucommia ulmoides</i> Oliv., Eucommiaceae; sadrži minimalno 0,10% pinoresinol diglukozida (C₃₂H₄₂O₁₆; Mr 683,0), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2017:2718 Evodiae fructus, plod evodije</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti neotvoreni plod <i>Tetradium ruticarpum</i> (A. Juss.) T. G. Hartley (sin. <i>Evodia ruticarpa</i> (A. Juss.) Hook. f. & Thomson), Rutaceae, sakupljen prije sazrijevanja; sadrži minimalno 0,15% sume evodiamina i rutekarpina, računatih kao evodiamin (C₁₉H₁₇N₃O, Mr 303,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>04/2013:0824 Foeniculi amari fructus, plod gorkog komorača</p> <p>Definicija droge: Osušeni kremokarp i merikarp <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. ssp. <i>vulgare</i> var. <i>vulgare</i>., Apiaceae; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 40,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu; • minimalno 60,0% anetola u eteričnom ulju; • minimalno 15,0% fenhona u eteričnom ulju.
<p>04/2011:0825 Foeniculi dulcis fructus, plod slatkog komorača</p> <p>Definicija droge: Osušeni plod i merikarp <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. subsp. <i>vulgare</i> var. <i>dulce</i> (Mill.) Batt. & Trab., Apiaceae; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 20,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu; • minimalno 80,0% anetola u eteričnom ulju.
<p>01/2019:1323 Trigonellae foenugraeci semen, sjeme grčke piskavice</p> <p>Definicija droge: Osušeni, zreli plod <i>Trigonella foenum-graecum</i> L., Fabaceae.</p>
<p>01/2008:1516 Tanacetii parthenii herba, zelen vratića</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani nadzemni dijelovi <i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Schultz Bip., Asteraceae; sadrži minimalno 0,2% partenolida (C₁₅H₂₀O₃, Mr 248,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2014:2433 Polygoni multiflori radix, korijen kineske heljde</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni tuberozni korijen <i>Fallopia multiflora</i> (Thunb.) Haraldson (sin. <i>Polygonum multiflorum</i> Thunb.), Polygonaceae; sadrži minimalno 1,0% 2,3,4,5,4'-tetrahidroksistilben-2-0-β-D-glukozid (C₂₀H₂₂O₉, Mr 406,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2013:2478 Stephaniae tetrandrae radix</p> <p>Definicija droge: Oguljeni, sječeni i osušeni korijen <i>Stephania tetrandra</i> S. Moore., Menispermaceae; sadrži minimalno 1,6% ukupnih tetrandrina i fangkinolina, računatih kao tetrandrin (C₃₈H₄₂N₂O₆; Mr 623,0), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>04/2011:0025 Frangulae cortex, kora krkovine/krušine</p> <p>Definicija droge: Osušena, cjelovita ili fragmentirana kora sa stabla i grana <i>Rhamnus frangula</i> L. (<i>Frangula alnus</i> Miller), Rhamnaceae; sadrži minimalno 7,0% glukofrangulina, računatih kao glukofrangulin A (C₂₇H₃₀O₁₄, Mr 578,5), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2015:1214 Frangulae corticis extractum siccum normatum, standardizirani suhi ekstrakt kore krkovine/krušine</p> <p>Standardizirani suhi ekstrakt dobijen iz kore krkovine/krušine, Frangulae cortex (0025); sadrži 15,0–30,0% glukofrangulina, računato kao glukofrangulin A (C₂₇H₃₀O₁₄, Mr 578,5), u odnosu na suhi ekstrakt; sadržaj ne smije odstupati više od ± 10% od navedenog sadržaja.</p>

<p>01/2015:2452 Fraxini rhynchophyllae cortex</p> <p>Definicija droge: Cjelovita ili fragmentirana, osušena kora sa grana i stabla <i>Fraxinus rhynchophylla</i> Hance, Oleaceae sakupljena u proljeće ili jesen; sadrži minimalno 1,0% sume eskulina (C₁₅H₁₆O₉, Mr 340,3) i eskuletina (C₉H₆O₄, Mr 178,1), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2016:2394 Myrtilli fructus recentis extractum siccum raffinatum et normatum, standardizirani i pročišćeni suhi ekstrakt svježih plodova borovnice</p> <p>Standardizirani i pročišćeni suhi ekstrakt dobijen iz svježih plodova borovnice, <i>Myrtilli fructus recentis</i> (1602); sadrži 32,4–39,6% antocijana, računatih kao cijanidin-3-O-glukozid hlorid (hrizantemin; C₂₁H₂₁ClO₁₁, Mr 484,8), u odnosu na suhi ekstrakt.</p>
<p>07/2015:1869 Fumariae herba, zelen dimnjače</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni nadzemni dijelovi <i>Fumaria officinalis</i> L., Papaveraceae, ubrani u punom cvatu; sadrži minimalno 0,4% ukupnih alkaloida, računatih kao protopin (C₂₀H₁₉NO₅; Mr 353,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2019:1216 Allii sativi bulbi pulvis, prašak lukovice bijelog luka/češnjaka</p> <p>Lukovica <i>Allium sativum</i> L., Alliacea, uklonjenog vanjskog rožnatog sloja, isječena, osušena, zamrznuta ili osušena na temperaturi do 65°C i pulverizirana; sadrži minimalno 0,45% alicina (C₆H₁₀OS₂; Mr 162,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2019:2721 Gastrodiae rhizoma, rizom gastrodije</p> <p>Definicija droge: Oparen, fragmentiran i osušen rizom <i>Gastrodia elata</i> Blume., Orchidaceae; sadrži minimalno 0,20% gastrodina (C₁₃H₁₈O₇; Mr 286,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2015:0392 Gentianae radix, korijen lincure</p> <p>Definicija droge: Osušeni, fragmentirani podzemni organi <i>Gentiana lutea</i> L., Gentianaceae.</p>
<p>01/2018:1870 Gentianae tinctura, tinktura lincure</p> <p>Tinktura izrađena od korijena lincure, <i>Gentianae radix</i> (0392).</p>
<p>01/2011:1522 Zingiberis rhizoma, rizom đumbira</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili sječeni rizom <i>Zingiber officinale</i> Roscoe, Zingiberaceae, sa uklonjenom plutom, potpuno ili samo sa širokih ravnih površina; sadrži minimalno 15,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu.</p>
<p>04/2008:1827 Ginkgonis extractum siccum raffinatum et quantificatum, kvantificiran i pročišćen suhi ekstrakt lista ginka</p> <p>Pročišćen i kvantificiran suhi ekstrakt dobijen iz lista ginka, <i>Ginkgo folium</i> (1828); Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 22,0–27,0% flavonoida, računatih kao flavon glikozid (Mr 756,7), u odnosu na suhi ekstrakt; • 2,6–3,2% bilobalida, u odnosu na suhi ekstrakt; • 2,8–3,4% ginkolida A, B i C, u odnosu na suhi ekstrakt; • maksimalno 5 ppm ginkolične kiseline, u odnosu na suhi ekstrakt.
<p>01/2011:1828 Ginkgonis folium, list ginka</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni list <i>Ginkgo biloba</i> L., Ginkgoaceae; sadrži ne manje od 0,5% flavonoida, računatih kao flavon glikozidi (Mr 757,0), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2016:1523 Ginseng radix, korijen ginsenga</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, suhi korijen – označen kao bijeli ginseng; tretiran parom i osušen – označen kao crveni ginseng <i>Panax ginseng</i> C. A. Mey., Araliaceae; sadrži minimalno 0,4% sume ginsenzida Rg1 (C₄₂H₇₂O₁₄·2H₂O; Mr 837,0) i Rb1 (C₅₄H₉₂O₂₃·3H₂O; Mr 1163,0), u odnosu na suhu drogu.</p>

01/2013:2356 Ginseng extractum siccum, suhi ekstrakt ginsenga
Suhi ekstrakt dobijen iz korijena ginsenga, Ginseng radix (1523); sadrži minimalno 4,0% ukupnih ginsenozida Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1 i Rg2, računatih kao ginsenozid Rb1 (C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃ ; Mr 1109,0), u odnosu na suhi ekstrakt.
04/2014:1892 Solidaginis herba, zelen zlatnice
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Solidago gigantea</i> Aiton ili <i>Solidago canadensis</i> L., Asteraceae, njihovi varijeteti ili hibridi i/ili mješavina navedenih vrsta; sadrži minimalno 2,5% flavonoida, računatih kao hiperozid (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ ; Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2013:1893 Solidaginis virgaureae herba, zelen prave zlatnice
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Solidago virgaurea</i> L., Asteraceae; sadrži minimalno 0,5%, a maksimalno 1,5% flavonoida, računatih kao hiperozid (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ ; Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2011:1831 Hydrastis rhizoma, rizom kanadske žutike
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni rizom sa korijenom <i>Hydrastis canadensis</i> L., Ranunculaceae; Propisani sadržaj:
<ul style="list-style-type: none"> • hidrastin (C₂₁H₂₁NO₆; Mr 383,4), minimalno 2,5%, u odnosu na suhu drogu; • berberin (C₂₀H₁₈NO₄; Mr 336,4), minimalno 3,0%, u odnosu na suhu drogu.
07/2012:1861 Chelidonii herba, zelen rosopasa
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili sječeni nadzemni dijelovi <i>Chelidonium majus</i> L., Papaveraceae, sakupljeni za vrijeme cvjetanja; sadrži minimalno 0,6% ukupnih alkaloida, računatih kao helidonin (C ₂₀ H ₁₉ NO ₅ ; Mr 353,4), u odnosu na suhu drogu.
04/2018:2668 Camelliae sinensis non fermentata folia, list zelenog čaja
Definicija droge: Mladi, nefermentirani list <i>Camellia sinensis</i> (L.), Theaceae, brzo stabiliziran kratkim zagrijavanjem, a potom osušen; Propisani sadržaj:
<ul style="list-style-type: none"> • kofein (C₈H₁₀N₄O₂; Mr 194,2), minimalno 1,5%, u odnosu na suhu drogu; • ukupni katehini, računati kao (-)-epigalokatehin-3-O-galat (C₂₂H₁₈O₁₁; Mr 458,4), minimalno 8,0%, u odnosu na suhu drogu.
01/2010:1218 Cyamopsidis seminis pulvis, prašak sjemena guara
Guar se dobija mljevenjem endosperma sjemena <i>Cyamopsis tetragonolobus</i> (L.), Fabaceae. Uglavnom se sastoji od guar-galaktomanana.
04/2018:2669 Guaranae semen, sjeme guarane
Definicija droge: Osušeno sjeme <i>Paullinia cupana</i> Kunth (sin. <i>Paullinia sorbilis</i> Mart.), Sapindaceae; sadrži minimalno 3,5% kofeina (C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂ ; Mr 194,2), u odnosu na suhu drogu.
01/2016:2532 Hamamelidis cortex, kora virinijskog hamamelisa
Definicija droge: Sječena, osušena kora sa stabla i grana <i>Hamamelis virginiana</i> L., Hamamelidaceae; sadrži minimalno 5,0% tanina, računatih kao pirogalol (C ₆ H ₆ O ₃ ; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.
01/2011:0909 Hamamelidis folium, list virinijskog hamamelisa
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni list <i>Hamamelis virginiana</i> L., Hamamelidaceae; sadrži minimalno 3,0% tanina, računatih kao pirogalol (C ₆ H ₆ O ₃ ; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.
04/2013:1220 Crataegi fructus, plod gloza
Definicija droge: Osušeni pseudoplodovi <i>Crataegus monogyna</i> Jacq. (Lindm.) ili <i>C. laevigata</i> (Poir.) DC. (sin. <i>C. oxyacantha</i> L.), Rosaceae ili njihovi hibridi ili mješavine navedenih pseudoplodova; sadrži minimalno 0,06% procijanidina, računatih kao cijanidin hlorid (C ₁₅ H ₁₁ ClO ₆ ; Mr 322,7), u odnosu na suhu drogu.

<p>01/2010:1432 Crataegi folium cum flore, list i cvijet gloga</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni listovi sa grančicama koje nose cvjetove <i>Crataegus monogyna</i> Jacq. (Lindm.), <i>C. laevigata</i> (Poir.) DC. (sin. <i>C. oxyacanthoides</i> Thuill.; <i>C. oxyacantha</i> auct.), Rosaceae, ili njihovi hibridi ili, rjeđe, ostale europske vrste roda <i>Crataegus</i> uključujući <i>C. pentagyna</i> Waldst. et Kit. ex Willd., <i>C. nigra</i> Waldst. et Kit. i <i>C. azarolus</i> L.; sadrži minimalno 1,5% ukupnih flavonoida, računatih kao hiperozid (C₂₁H₂₀O₁₂; Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2010:1865 Crataegi folii cum flore extractum siccum, suhi ekstrakt lista i cvijeta gloga</p> <p>Suhi ekstrakt dobijen iz listova i cvjetova gloga, <i>Crataegi folium cum flore</i> (1432); Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Za vodene ekstrakte: minimalno 2,5% ukupnih flavonoida, računatih kao hiperozid (C₂₁H₂₀O₁₂; Mr 464,4), u odnosu na suhi ekstrakt; • Za vodeno-alkoholne ekstrakte: minimalno 6,0% ukupnih flavonoida, računatih kao hiperozid (C₂₁H₂₀O₁₂; Mr 464,4), u odnosu na suhi ekstrakt.
<p>01/2008:1864 Crataegi folii cum flore extractum fluidum quantificatum, kvantificirani tečni ekstrakt lista i cvijeta gloga</p> <p>Kvantificirani tečni ekstrakt dobijen iz listova i cvjetova gloga, <i>Crataegi folium cum flore</i> (1432); sadrži 0,8–3,0% flavonoida, računatih kao hiperozid (C₂₁H₂₀O₁₂; Mr 464,4).</p>
<p>01/2011:1222 Lupuli flos, cvijet hmelja</p> <p>Definicija droge: Osušene, uglavnom, cjelovite ženske cvasti <i>Humulus lupulus</i> L., Cannabaceae.</p>
<p>01/2017:1830 Hippocastani semen, sjeme kestena</p> <p>Definicija droge: Cjelovito ili fragmentirano, osušeno zrelo sjeme <i>Aesculus hippocastanum</i> L., Hippocastanaceae; sadrži minimalno 1,5% triterpenskih glikozida, računatih kao protoescigenin (C₃₀H₅₀O₆; Mr 506,7), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2017:1829 Hippocastani seminis extractum siccum normatum, standardizirani suhi ekstrakt sjemena kestena</p> <p>Standardizirani suhi ekstrakt iz sjemena kestena, <i>Hippocastani semen</i> (1830); sadrži 6,5–10,0% ukupnih triterpenskih glikozida, računatih kao protoescigenin (C₃₀H₅₀O₆; Mr 506,7), u odnosu na suhi ekstrakt.</p>
<p>04/2018:2722 Houittuyniae herba, zelen biljke kameleona</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Houittuynia cordata</i> Thunb., Saururaceae; sadrži minimalno 0,10% kvercetina (C₂₁H₂₀O₁₁; Mr 448,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2010:1439 Lichen islandicus, islandski lišaj</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni talus <i>Cetraria islandica</i> (L.) Acharius s.l., Parmeliaceae.</p>
<p>01/2013:2310 Olibanum indicum, indijski olibanum</p> <p>Definicija droge: Na vazduhu osušeni, gumeni eksudat, dobijen incizijom stabla i grana <i>Boswellia serrata</i> Roxb. ex Colebr., Burseraceae; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 1,0% 11-keto-β-bosvelične kiseline (C₃₀H₄₆O₄; Mr 470,7), u odnosu na suhu drogu; • minimalno 1,0% acetil-11-keto-β-bosvelične kiseline (C₃₂H₄₈O₅; Mr 512,7), u odnosu na suhu drogu.
<p>01/2016:2727 Persicariae tinctoriae folium</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni list <i>Persicaria tinctoria</i> (Aiton) H. Gross (sin. <i>Polygonum tinctorium</i> Aiton), Polygonaceae, sakupljen u ljeto i jesen; sadrži minimalno 0,55% indigo (C₁₆H₁₀N₂O₂; Mr 262,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>04/2016:1875 Ipecacuanhae extractum fluidum normatum, standardizirani tečni ekstrakt ipekakuane</p> <p>Standardizirani tečni ekstrakt dobijen iz korijena ipekakuane, <i>Ipecacuanhae radix</i> (0094); sadrži 1,80–2,20% ukupnih alkaloida, računatih kao emetin (C₂₉H₄₀N₂O₄; Mr 480,6).</p>

04/2016:0093 Ipecacuanhae pulvis normatus, standardizirani prašak korijena ipekakuane

Standardizirani prašak (180) (2.9.12) korijena ipekakuane, *Ipecacuanha radix* (0094), modificiran, ukoliko je neophodno, dodatkom laktoze u formi pulvisa, ili pulvisa korijena ipekakuane sa nižim sadržajem alkaloida; sadrži 1,9–2,1% ukupnih alkaloida, računatih kao emetin (C₂₉H₄₀N₂O₄; Mr 480,6), u odnosu na suhu drogu.

04/2016:0094 Ipecacuanhae radix, korijen ipekakuane

Definicija droge: Fragmentirani i osušeni podzemni organi *Carapichea ipecacuanha* (Brot.) L. Andersson (sin. *Cephaëlis ipecacuanha* (Brot.) A. Rich.; *Cephaëlis acuminata* H. Karst.), Rubiaceae, porijeklom iz Matu Grosu ili Kostarike. Glavni alkaloidi su emetin i cefelin; sadrži minimalno 2,0% ukupnih alkaloida, računatih kao emetin (C₂₉H₄₀N₂O₄; Mr 480,6), u odnosu na suhu drogu.

04/2016:1530 Ipecacuanhae tinctura normata, standardizirana tinktura ipekakuane

Tinktura izrađena od korijena ipekakuane, *Ipecacuanha radix* (0094); sadrži 0,18–0,22% m/m ukupnih alkaloida, računatih kao emetin (C₂₉H₄₀N₂O₄; Mr 480,6).

01/2019:2566 Isatidis radix, korijen ličilarskog vrbovnika

Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni korijen *Isatis tinctoria* L. (*I. indigotica* Fortune ex Lindl.), Brassicaceae; sakupljen u jesen; sadrži minimalno 1,0% arginina (C₆H₁₄N₄O₂; Mr 174,2), u odnosu na suhu drogu.

01/2008:1334 Plantaginis ovatae seminis tegumentum, omotač sjemena indijskog trpuca

Definicija droge: Episperm i spoljašnji omotač uklonjeni sa sjemena *Plantago ovata* Forssk. (*P. ispaghula* Roxb.), Plantaginaceae.

01/2008:1333 Plantaginis ovatae semen, sjeme indijskog trpuca

Definicija droge: Osušeno, zrelo sjeme *Plantago ovata* Forssk. (*P. ispaghula* Roxb.), Plantaginaceae.

04/2014:2148 Hederae folium, list bršljana

Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni listovi *Hedera helix* L., Araliaceae, sakupljeni u proljeće i ljeto; sadrži minimalno 3,0% hederakozida C (C₅₉H₉₆O₂₆; Mr 1221), u odnosu na suhu drogu.

01/2016:1229 Orthosiphonis folium, list ortosifona

Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni list i vrh stabljike *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. var. *aristatus* (sin. *Orthosiphon stamineus* Benth.), Lamiaceae; sadrži minimalno 0,3% ruzmarinske kiseline (C₁₈H₁₆O₈; Mr 360,3), u odnosu na suhu drogu.

07/2013:1532 Juniperi galbulus, bobičasta smrekinja

Definicija droge: Osušena, zrela konusna smrekinja *Juniperus communis* L., Cupressaceae; sadrži minimalno 10,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu.

07/2013:1832 Juniperi aetheroleum, eterično ulje smreke/kleke/borovice

Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz zrelih, nefermentiranih koničnih bobica *Juniperus communis* L., Cupressaceae. Pogodan antioksidans može biti dodan.

01/2008:1426 Fucus vel Ascophyllum, smeđe alge

Definicija droge: Fragmentirani, osušeni talus *Fucus vesiculosus* L. ili *F. serratus* L. ili *Ascophyllum nodosum* Le Jolis., Fucaceae; sadrži minimalno 0,03% i maksimalno 0,2% ukupnog joda (Mr 126,9), u odnosu na suhu drogu.

07/2013:1885 Polygoni avicularis herba, zelen troskota

Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni vršni dijelovi u cvatu *Polygonum aviculare* L. s.l., Polygonaceae; sadrži minimalno 0,3% flavonoida, računatih kao hiperozid (C₂₁H₂₀O₁₂; Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.

<p>01/2012:2434 Puerariae lobatae radix, korijen kudžu</p> <p>Definicija droge: Osušeni, fragmentirani korijen <i>Pueraria lobate</i> (Willd.) Ohwi., Fabaceae; sadrži minimalno 6,5% ukupnih izoflavonoida, računatih kao puerarin ($C_{12}H_{20}O_9$; Mr 416,4), od čega minimalno 45,0% čini puerarin, u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2018:1534 Lavandulae flos, cvijet lavande</p> <p>Definicija droge: Osušeni cvjetovi <i>Lavandula angustifolia</i> Mill. (<i>L. officinalis</i> Chaix), Lamiaceae; sadrži minimalno 13,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu.</p>
<p>07/2018:1338 Lavandulae aetheroleum, eterično ulje lavande</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom vršnih dijelova u cvatu <i>Lavandula angustifolia</i> Mill. (<i>Lavandula officinalis</i> Chaix), Lamiaceae.</p>
<p>01/2008:0620 Limonis aetheroleum, eterično ulje limuna</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno odgovarajućim mehaničkim postupkom, bez upotrebe toplote, iz svježe kore <i>Citrus limon</i> (L.) Burman fil., Rutaceae.</p>
<p>01/2012:1834 Verbenae citriodora folium, list limunovca</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni listovi <i>Aloysia citrodora</i> Paláu (sin. <i>Aloysia triphylla</i> (L'Hér.) Kuntze; <i>Verbena triphylla</i> L'Hér.; <i>Lippia citriodora</i> Kunth), Verbenaceae; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 2,5% akteozida ($C_{29}H_{36}O_{15}$; Mr 625,0), računato kao ferulična kiselina, u odnosu na suhu drogu; • eterično ulje: minimalno 3,0 mL/kg – cjelovita osušena droga i • minimalno 2,0 mL/kg – fragmentirana osušena droga.
<p>01/2019:2440 Sophorae flavescens radix, korijen svijetložute sofore</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni korijen <i>Sophora flavescens</i> Aiton, Fabaceae, oslobođen sitnog korijenja i korijenove kape, sakupljen u proljeće ili jesen; sadrži minimalno 1,2% sume matrina ($C_{15}H_{24}N_2O$, Mr 248,4) i oksimatrina ($C_{15}H_{24}N_2O_2$; Mr 264,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2008:0957 Tiliae flos, cvijet lipe</p> <p>Definicija droge: Cjelovita, osušena cvast <i>Tilia cordata</i> Miller, <i>Tilia platyphyllos</i> Scop., <i>Tilia vulgaris</i> Heyne, Tiliaceae, ili mješavina navedenih vrsta.</p>
<p>04/2011:0095 Lini semen, sjeme lana</p> <p>Definicija droge: Osušeno, zrelo sjeme <i>Linum usitatissimum</i> L., Linaceae.</p>
<p>01/2012:2378 Liquiritiae extractum siccum ad saporandum, suhi ekstrakt sladića – uloga zaslađivača</p> <p>Suhi ekstrakt dobijen iz korijena sladića, <i>Liquiritiae radix</i> (0277); sadrži 5,0–7,0% 18β-glicirizinske kiseline ($C_{42}H_{62}O_{16}$; Mr 823,0), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2012:0277 Liquiritiae radix, korijen sladića</p> <p>Definicija droge: Osušeni, oguljeni ili neoguljeni, cjeloviti ili sječeni korijen i stoloni <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. i/ili <i>Glycyrrhiza inflata</i> Bat. i/ili <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch., Fabaceae; sadrži minimalno 4,0% 18β-glicirizinske kiseline ($C_{42}H_{62}O_{16}$; Mr 823,0), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2014:2453 Piperis longi fructus, plod dugog bibera</p> <p>Definicija droge: Osušeni, zreli ili sazrijevujući plod <i>Piper longum</i> L., <i>Piper retrofractum</i> Vahl (sin. <i>P. chaba</i> Hunter i <i>P. officinarum</i> Miq. C. DC.), Piperaceae, ili mješavina obje vrste; sadrži minimalno 6,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na suhu drogu.</p>

04/2013:1537 Lythri herba, zelen vrbice
Definicija droge: Cijeli ili sječeni, osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Lythrum salicaria</i> L., Lythraceae; sadrži minimalno 5,0% tanina, računatih kao pirogalol (C ₆ H ₆ O ₃ ; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.
01/2013:1233 Levistici radix, korijen ljupčaca
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni rizom i korijen <i>Levisticum officinale</i> Koch., Apiaceae; sadrži minimalno 4,0 mL/kg eteričnog ulja za cijelu drogu i minimalno 3,0 mL/kg eteričnog ulja za sječenu drogu, računato u odnosu na suhu drogu.
04/2017:2723 Lycopi herba
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni nadzemni dijelovi <i>Lycopus lucidus</i> var. <i>hirsute</i> (Regel) Makino & Nemoto, Labiateae; sadrži minimalno 0,15% ruzmarinske kiseline (C ₁₈ H ₁₆ O ₈ ; Mr 360,3), u odnosu na suhu drogu.
01/2018:2742 Magnoliae biondii flos immaturus
Definicija droge: Cjeloviti, osušeni pupoljak cvijeta <i>Magnolia biondii</i> Pamp. (sin. <i>Yulania biondii</i> (Pamp.) D. L. Fu.), Magnoliaceae, Propisani sadržaj: <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 14,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu; • minimalno 3,0% magnolina (C₂₃H₂₈O₇; Mr 416,5), u odnosu na anhidrovanu drogu.
04/2014:2567 Magnoliae officinalis cortex, kora magnolije
Definicija droge: Osušena kora sa stabla i grana <i>Magnolia officinalis</i> Rehder et E. H. Wilson., Magnoliaceae; sadrži minimalno 2,0% sume magnolola (C ₁₈ H ₁₈ O ₂ ; Mr 266,3) i honokiola (C ₁₈ H ₁₈ O ₂ ; Mr 266,3), u odnosu na suhu drogu.
04/2013:2568 Magnoliae officinalis flos, cvijet magnolije
Definicija droge: Opareni i osušeni, neotvoreni cvijet <i>Magnolia officinalis</i> Rehder et E.H. Wilson., Magnoliaceae; sadrži minimalno 0,20% sume magnolola (C ₁₈ H ₁₈ O ₂ ; Mr 266,3) i honokiola (C ₁₈ H ₁₈ O ₂ ; Mr 266,3), u odnosu na suhu drogu.
01/2011:1541 Malvae sylvestris flos, cvijet crnog sljeza
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani cvijet <i>Malva sylvestris</i> L., Malvaceae ili njegove kultivirane vrste.
01/2011:2391 Malvae folium, list crnog sljeza
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni list <i>Malva sylvestris</i> L., <i>Malva neglecta</i> Wallr., Malvaceae ili mješavina navedenih vrsta.
04/2016:2430 Citri reticulatae epicarpium et mesocarpium, epikarp i mezokarp ploda mandarine
Definicija droge: Osušeni epikarp i mezokarp zrelog ploda <i>Citrus reticulata</i> Blanco., Rutaceae ili druge kultivirane vrste, djelomično oslobođen od bijelog spužvastog tkiva mezokarpa; sadrži minimalno 3,5% hesperidina (C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅ ; Mr 611,0), u odnosu na suhu drogu.
01/2008:2355 Citri reticulatae aetheroleum, eterično ulje ploda mandarine
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno bez zagrijavanja, pomoću odgovarajućeg mehaničkog postupka iz kore svježeg ploda <i>Citrus reticulata</i> Blanco., Rutaceae.
01/2012:1856 Althaeae folium, list bijelog sljeza
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni list <i>Althaea officinalis</i> L., Malvaceae.
01/2012:1126 Althaeae radix, korijen bijelog sljeza
Definicija droge: Oguljeni ili neoguljeni, cjeloviti ili sječeni, osušeni korijen <i>Althaea officinalis</i> L., Malvaceae.
01/2017:1876 Mastix, mastiks
Definicija droge: Osušena smola dobijena sa grana i stabala <i>Pistacia lentiscus</i> L., Anacardiaceae; sadrži minimalno 10 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu.

<p>04/2018:2678 Mate folium, list paragvajske božikovine</p> <p>Definicija droge: Zagrijavanjem brzo osušen i usitnjen list <i>Ilex paraguariensis</i> A.St.-Hil., Aquifoliaceae; sadrži minimalno 1,0% kofeina (C₈H₁₀N₄O₂; Mr 194,2), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>04/2016:0404 Matricariae flos, cvijet kamilice</p> <p>Definicija droge: Osušena cvjetna glavica <i>Matricaria recutita</i> L. (<i>Chamomilla recutita</i> (L.) Rauschert), Asteraceae; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 4,0 mL/kg plavog eteričnog ulja, u odnosu na suhu drogu; • minimalno 0,25% ukupnog apigenin 7-glukozid (C₂₁H₂₀O₁₀; Mr 432,4), u odnosu na suhu drogu.
<p>01/2008:1544 Matricariae extractum fluidum, tečni ekstrakt cvijeta kamilice</p> <p>Tečni ekstrakt cvijeta kamilice, Matricariae flos (0404), sadrži minimalno 0,30% plavog rezidualnog ulja.</p>
<p>01/2008:1836 Matricariae aetheroleum, eterično ulje cvijeta kamilice</p> <p>Definicija droge: Plavo eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz svježih ili osušenih cvjetnih glavica <i>Matricaria recutita</i> L. (<i>Chamomilla recutita</i> L. Rauschert), Asteraceae. Postoje dva tipa eteričnog ulja kamilice koji se razlikuju po udjelu bisabolol oksida ili (-)-α-bisabolol.</p>
<p>04/2013:1868 Filipendulae ulmariae herba, zelen močvarne končare</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Filipendula ulmaria</i> (L.) Maxim. (sin. <i>Spiraea ulmaria</i> L.), Rosaceae; sadrži minimalno 1,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2012:2120 Meliloti herba, zelen kokotca</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni nadzemni dijelovi <i>Melilotus officinalis</i> (L.) Lam., Fabaceae; sadrži minimalno 0,3% kumarina (C₉H₆O₂; Mr 146,1), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2011:1447 Melissa folium, list matičnjaka</p> <p>Definicija droge: Osušeni list <i>Melissa officinalis</i> L., Lamiaceae; sadrži minimalno 1,0% ruzmarinske kiseline (C₁₈H₁₆O₈; Mr 360,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2010:2524 Melissa folii extractum siccum, suhi ekstrakt lista matičnjaka</p> <p>Suhi ekstrakt dobijen iz lista matičnjaka, Melissa folium (1447); sadrži minimalno 2,0% ruzmarinske kiseline (C₁₈H₁₆O₈; Mr 360,3), u odnosu na suhi ekstrakt.</p>
<p>01/2019:2071 Silybi mariani extractum siccum raffinatum et normatum, standardiziran i prečišćen suhi ekstrakt ploda sikavice</p> <p>Suhi ekstrakt, standardiziran i prečišćen, dobijen iz ploda sikavice, Silybi mariani fructus (1860); Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 90–110% nominalnog sadržaja silimarina, računatog kao silibinin (C₂₅H₂₂O₁₀; Mr 482,4). Nominalni sadržaj silimarina je 30,0–65,0% m/m, u odnosu na anhidrovani ekstrakt. • Sadržaj silimarina odgovara: • suma sadržaja silikristina i silidianina: 20,0–45,0% (oba: C₂₅H₂₂O₁₀; Mr 482,4), računato u odnosu na ukupni silimarin; • suma sadržaja silibina A i silibina B: 40,0–65,0% (oba: C₂₅H₂₂O₁₀; Mr 482,4), računato u odnosu na ukupni silimarin; • suma sadržaja izosilibinina A i izosilibinina B: 10,0–20,0% (oba: C₂₅H₂₂O₁₀; Mr 482,4), računato u odnosu na ukupni silimarin.
<p>01/2014:1860 Silybi mariani fructus, plod sikavice</p> <p>Definicija droge: Zreli plod bez papusa <i>Silybum marianum</i> L. Gaertn., Asteraceae; sadrži minimalno 1,5% silimarina, računatog kao silibinin (C₂₅H₂₂O₁₀; Mr 482,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2008:1838 Menthae arvensis aetheroleum partim mentholum depletum, eterično ulje pitome nane djelomično oslobođeno od mentola</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz svježih, vršnih dijelova u cvatu <i>Mentha canadensis</i> L. (sin. <i>M. arvensis</i> L. var. <i>glabrata</i> (Benth) Fern., <i>M. arvensis</i> var. <i>piperascens</i> Malinv. ex Holmes), Lamiaceae, nakon čega slijedi djelimično odvajanje mentola procesom kristalizacije.</p>

<p>01/2013:1833 Leonuri cardiaca herba, zelen prave srčenicice</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Leonurus cardiaca</i> L., Lamiaceae; sadrži minimalno 0,2% flavonoida, računatih kao hiperozid (C₂₁H₂₀O₁₂, Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>04/2018:2474 Moutan cortex, kora drvenastog božura</p> <p>Definicija droge: Osušena, cjelovita ili fragmentirana, oguljena ili neoguljena kora sa korijena <i>Paeonia x suffruticosa</i> Andrews, Paeoniaceae, sakupljena u jesen; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 2,2% paeonola (C₉H₁₀O₃; Mr 166,2), u odnosu na suhu drogu; • minimalno 1,1% paeoniflorina (C₂₃H₂₈O₁₁; Mr 480,5), u odnosu na suhu drogu.
<p>01/2011:1853 Verbasci flos, cvijet divizme</p> <p>Definicija droge: Osušeni cvijet, sveden na kronicu i prašnike <i>Verbascum thapsus</i> L., <i>V. densiflorum</i> Bertol. (<i>V. thapsiforme</i> Schrad), i <i>V. phlomoides</i> L., Scrophulariaceae.</p>
<p>07/2017:1349 Myrrha, mira</p> <p>Definicija droge: Na vazduhu osušena smola, dobijena incizijom ili spontanom ozljeđivanjem grana i stabla <i>Commiphora myrrha</i> (Nees) Engl. (sin. <i>Commiphora molmol</i> (Engl.) Engl. ex Tschirch), Burseraceae i/ili druge biljne vrste roda <i>Commiphora</i>.</p>
<p>07/2017:1877 Myrrhae tinctura, tinktura mire</p> <p>Tinktura izrađena od osušene smole mire, Myrrha (1349).</p>
<p>01/2008:1821 Echinaceae angustifoliae radix, korijen uskolisne chinaceje</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili sječeni podzemni organi <i>Echinacea angustifolia</i> (D. C.), Asteraceae; sadrži minimalno 0,5% ehinakozida (C₃₅H₄₆O₂₀, Mr 786,5), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2008:1175 Neroli aetheroleum, eterično ulje cvijeta naranče</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz svježih cvjetova <i>Citrus aurantium</i> L. subsp. <i>aurantium</i> L. (<i>C. aurantium</i> L. subsp. <i>amara</i> Engl.), Rutaceae.</p>
<p>01/2011:1897 Urticae folium, list koprive</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni listovi <i>Urtica dioica</i> L., <i>Urtica urens</i> L., Urticaceae ili mješavina navedenih vrsta; sadrži minimalno 0,3% sume kafeoilimalične i hlorogenske kiseline, računato kao hlorogenska kiselina (C₁₆H₁₈O₉, Mr 354,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2015:2538 Urticae radix, korijen koprive</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani podzemni organi <i>Urtica dioica</i> L., <i>Urtica urens</i> L., Urticaceae, njihovi hibridi ili mješavina navedenih biljnih vrsta.</p>
<p>07/2012:2468 Niaouli typo cineolo aetheroleum, eterično ulje niaulija</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz mladih grančica koje nose listove <i>Melaleuca quinquenervia</i> (Cav.) S. T. Blake, Myrtaceae.</p>
<p>01/2008:2383 Notoginseng radix, korijen himalajskog ginsenga</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani glavni korijen, oslobođen sekundarnog korijenja <i>Panax pseudoginseng</i> Wall. var. <i>notoginseng</i> (Burk.) Hoo et Tseng [<i>Panax notoginseng</i> (Burk.) F.H. Chen ex C.Y. Wu et K.M. Feng], Araliaceae, tretiran vodenom parom i osušen; sadrži minimalno 3,8% sume ginsenzoida Rg1 (C₄₂H₇₂O₁₄·2H₂O, Mr 837,0) i Rb1 (C₅₄H₉₂O₂₃·3H₂O, Mr 1163,0), u odnosu na suhu drogu.</p>

<p>01/2008:1552 Myristicae fragrantis aetheroleum, eterično ulje miristike</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz osušenih i zdrobljenih jezgri <i>Myristica fragrans</i> Houtt., Myristicaceae.</p>
<p>01/2008:1887 Quercus cortex, kora hrasta</p> <p>Definicija droge: Sječena i osušena kora sa svježih mladih grana <i>Quercus robur</i> L., <i>Q. petraea</i> (Matt.) Liebl. i <i>Q. pubescens</i> Willd., Fagaceae; sadrži minimalno 3,0% tanina, računatih kao pirogalol (C₆H₆O₃, Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2009:1878 Oleae folium, list masline</p> <p>Definicija droge: Osušeni list <i>Olea europaea</i> L., Oleaceae; sadrži minimalno 5,0% oleuropeina (C₂₅H₃₂O₁₃; Mr 540,5), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>04/2009:2313 Oleae folii extractum siccum, suhi ekstrakt lista masline</p> <p>Suhi ekstrakt dobijen iz lista masline, <i>Oleae folium</i> (1878); sadrži minimalno 16,0% oleuropeina (C₂₅H₃₂O₁₃; Mr 540,5), u odnosu na suhi ekstrakt.</p>
<p>01/2015:1839 Opii extractum siccum normatum, standardizirani suhi ekstrakt sirovog opijuma</p> <p>Standardizirani, suhi ekstrakt dobijen iz sirovog opijuma, <i>Opium crudum</i> (0777); Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 19,6–20,4% morfina (C₁₇H₁₉NO₃, Mr 285,3), u odnosu na suhi ekstrakt; • minimalno 2,0% kodeina (C₁₈H₂₁NO₃, Mr 299,4), u odnosu na suhi ekstrakt. <p>Sadržaj se po potrebi modificira dodavanjem odgovarajućeg pomoćnog sredstva (npr. laktoza, dekstrini)</p>
<p>01/2015:1840 Opii pulvis normatus, standardizirani prašak sirovog opijuma</p> <p>Sirovi opijum, <i>Opium crudum</i> (0777), pulveriziran i osušen na temperaturi do 70°C, modificiran, ukoliko je neophodno, dodatkom pogodnog pomoćnog sredstva ili praška sirovog opijuma sa nižim sadržajem alkaloida. Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 9,5–10,5% morfina (C₁₇H₁₉NO₃, Mr 285,3), u odnosu na suhi pripravak • minimalno 1,0% kodeina (C₁₈H₂₁NO₃, Mr 299,4), u odnosu na suhi preparat.
<p>01/2015:0777 Opium crudum, sirovi opijum</p> <p>Definicija droge: Na vazduhu osušeni mliječni sok koji se dobija incizijom nedozrelih čahura <i>Papaver somniferum</i> L., Papaveraceae; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 10,0% morfina (C₁₇H₁₉NO₃, Mr 285,3), u odnosu na suhu drogu; • minimalno 2,0% kodeina (C₁₈H₂₁NO₃, Mr 299,4), u odnosu na suhu drogu.
<p>01/2015:1841 Opii tinctura normata, standardizirana tinktura opijuma</p> <p>Standardizirana tinktura dobijena od sirovog opijuma, <i>Opium crudum</i> (0777); Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0,95–1,05% morfina (C₁₇H₁₉NO₃, Mr 285,3); • minimalno 0,1% kodeina (C₁₈H₂₁NO₃, Mr 299,4).
<p>01/2011:1880 Origani herba, zelen origana</p> <p>Definicija droge: Osušeni listovi i cvjetovi, oslobođeni od stabljike <i>Origanum onites</i> L. ili <i>Origanum vulgare</i> L. subsp. <i>hirtum</i> (Link) Ietsw., Lamiaceae ili mješavina navedenih vrsta; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 25,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu; • minimalno 60,0% ukupnog sadržaja karvakrola i timola (C₁₀H₁₄O; Mr 150,2), u eteričnom ulju.
<p>01/2013:2450 Sinomenii caulis, stabljika sinomenijuma</p> <p>Definicija droge: Osušena, cjelovita ili fragmentirana stabljika <i>Sinomenium acutum</i> (Thunb.) Rehder et E.H. Wilson, Menispermaceae, sakupljena u kasnu jesen ili ranu zimu; sadrži minimalno 0,5% sinomenina (C₁₉H₂₃NO₄, Mr 329,4), u odnosu na suhu drogu.</p>

01/2008:1822 Echinaceae pallidae radix, korijen ružičaste ehinaceje
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili sječeni podzemni organi <i>Echinacea pallida</i> Nutt., Asteraceae; sadrži minimalno 0,2% ehinakozida (C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀ ; Mr 786,5), u odnosu na suhu drogu.
01/2008:1459 Passiflorae herba, zelen pasiflore
Definicija droge: Fragmentirani ili sječeni, osušeni nadzemni dijelovi <i>Passiflora incarnata</i> L., Passifloraceae, također mogu biti prisutni cvjetovi i/ili plodovi; sadrži minimalno 1,5% ukupnih flavonoida, računatih kao viteksin (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ , Mr 432,4), u odnosu na suhu drogu.
01/2008:1882 Passiflorae herbae extractum siccum, suhi ekstrakt zeleni pasiflore
Suhi ekstrakt dobijen iz zeleni pasiflore, Passiflorae herba (1459); sadrži minimalno 2,0% flavonoida, računatih kao viteksin (C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀ , Mr 432,4), u odnosu na suhi ekstrakt.
01/2008:2264 Pelargonii radix, korijen ljekovite pelargonije
Definicija droge: Osušeni, obično fragmentirani, podzemni organi <i>Pelargonium sidoides</i> DC. ili <i>Pelargonium reniforme</i> Curt., Geraniaceae; sadrži minimalno 2,0% tanina, računatih kao pirogalol (C ₆ H ₆ O ₃ ; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.
01/2017:2425 Paeoniae radix rubra, crveni rajčasti korijen
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani korijen <i>Paeonia lactiflora</i> Pall. ili <i>Paeonia veitchii</i> Lynch, Ranunculaceae ili mješavine ove dvije vrste, oslobođen rizoma i sitnog korijenja; sadrži minimalno 1,8% paeoniflorina (C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁ ; Mr 480,5), u odnosu na suhu drogu.
01/2017:2424 Paeoniae radix alba, bijeli rajčasti korijen
Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, oguljeni korijen <i>Paeonia lactiflora</i> Pall., Ranunculaceae, oslobođen rizoma i sitnog korijenja, tretiran ključalom vodom i osušen; sadrži minimalno 1,6% paeoniflorina (C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁ ; Mr 480,5), u odnosu na suhu drogu.
01/2013:2477 Piperis fructus, plod bibera
Definicija droge: Osušeni, zreli ili gotovo zreli plod <i>Piper nigrum</i> L., Piperaceae, sa neoštećenim perikarpom (crni biber) ili sa uklonjenim vanjskim slojevima perikarpa (bijeli biber). Propisani sadržaj:
<ul style="list-style-type: none"> • minimalno 25,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu; • minimalno 3,0% piperina (C₁₇H₁₉NO₃; Mr 285,3), u odnosu na anhidrovanu drogu.
07/2017:0406 Menthae piperitae folium, list pitome metvice/nane
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni list <i>Mentha ×piperita</i> L., Lamiaceae; Propisani sadržaj eteričnog ulja:
<ul style="list-style-type: none"> • za cjelovitu drogu, minimalno 12,0 mL/kg, u odnosu na anhidrovanu drogu; • za sječenu drogu, minimalno 9,0 mL/kg, u odnosu na anhidrovanu drogu.
07/2017:2382 Menthae piperitae folii extractum siccum, suhi ekstrakt lista pitome metvice/nane
Suhi ekstrakt dobijen iz lista pitome metvice/nane, Menthae piperitae folium (0406); sadrži minimalno 0,5% ruzmarinske kiseline (C ₁₈ H ₁₆ O ₈ , Mr 360,3), u odnosu na suhi ekstrakt.
07/2012:0405 Menthae piperitae aetheroleum, eterično ulje pitome metvice/nane
Definicija droge: Eterično ulje dobijeno vodenom destilacijom iz svježih vršnih dijelova u cvatu <i>Mentha ×piperita</i> L., Lamiaceae.
01/2008:0754 Balsamum peruvianum, peruanski balzam
Definicija droge: Balzam dobijen sa spaljenog i ozljeđenog stabla <i>Myroxylon balsamum</i> (L.) Harms var. <i>pereirae</i> (Royle) Harms., Fabaceae; sadrži 45,0–70,0% m/m estera, uglavnom benzil benzoata i benzil cinamata.

<p>01/2008:1842 Pini sylvestris aetheroleum, eterično ulje običnog bora</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno vodenom destilacijom iz svježih cvjetova i grana <i>Pinus sylvestris</i> L., Pinaceae. Pogodan antioksidans može biti dodan.</p>
<p>04/2018:2660 Platycodonis radix</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani korijen <i>Platycodon grandiflorus</i> (Jacq.) A. DC., Campanulaceae, oguljen ili neoguljen, oslobođen sitnog korijenja, sakupljen u proljeće ili jesen; sadrži minimalno 0,3% ukupnih saponina, računatih kao platikodin D (C₅₇H₉₂O₂₈; Mr 1225,0), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2017:2724 Polygoni cuspidati rhizoma et radix, rizom i korijen japanskog dvornika</p> <p>Definicija droge: Osušeni, fragmentirani rizom i korijen, oslobođen sitnog korijenja <i>Reynoutria japonica</i> Houtt. (sin. <i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb. et Zucc.), Polygonaceae, sakupljen tokom proljeća ili jeseni. Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • emodin (C₁₅H₁₀O₅; Mr 270,2): minimalno 1,0%, u odnosu na suhu drogu; • polidatin (C₂₀H₂₂O₈; Mr 390,4): minimalno 1,5%, u odnosu na suhu drogu.
<p>01/2017:2726 Polygoni orientalis fructus, plod običnog dvornika</p> <p>Definicija droge: Osušeni, zreli plod <i>Persicaria orientalis</i> (L.) Spach (sin. <i>Polygonum orientale</i> L.), Polygonaceae; sadrži minimalno 0,15% taksifolina (C₁₅H₁₂O₇; Mr 304,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2012:2475 Poria, porija</p> <p>Definicija droge: Osušeni sklerocijum bez ljuštire porije <i>Wolfiporia extensa</i> (Peck) Ginns (sin. <i>Poria cocos</i> (Schw.) Wolf; <i>Wolfiporia cocos</i> (F. A. Wolf) Ryvarden & Gilb.), Polyporaceae.</p>
<p>04/2013:1364 Primulae radix, korijen jagorčevine</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni rizom i korijen <i>Primula veris</i> L. ili <i>Primula elatior</i> Hill., Primulaceae.</p>
<p>01/2008:0858 Psyllii semen, sjeme indijskog trpuca</p> <p>Definicija droge: Zrelo, cjelovito, osušeno sjeme <i>Plantago afra</i> L. (<i>Plantago psyllium</i> L.) ili <i>Plantago indica</i> L. (<i>Plantago arenaria</i> Waldstein & Kitaibel), Plantaginaceae.</p>
<p>01/2008:1823 Echinaceae purpureae herba, zelen purpurne ehinaceje</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili sječeni nadzemni vršni dijelovi u cvatu <i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench., Asteraceae; sadrži minimalno 0,1% sume kaftarične kiseline (C₁₃H₁₂O₉, Mr 312,2) i cikorične kiseline (C₂₂H₁₈O₁₂, Mr 474,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2008:1824 Echinaceae purpureae radix, korijen purpurne ehinaceje</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili sječeni podzemni organi <i>Echinacea purpurea</i> (L.) Moench., Asteraceae; sadrži minimalno 0,5% sume kaftarične kiseline (C₁₃H₁₂O₉, Mr 312,2) i cikorične kiseline (C₂₂H₁₈O₁₂, Mr 474,3), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2015:1886 Pruni africanae cortex, kora afričke šljive</p> <p>Definicija droge: Cjelovita ili fragmentirana, osušena kora sa grana i stabla <i>Prunus africana</i> (Hook. f.) Kalkman (sin. <i>Pygeum africanum</i> Hook. f.), Rosaceae.</p>
<p>04/2013:1843 Quillajae cortex, kora kvilaje</p> <p>Definicija droge: Cjelovita ili fragmentirana, osušena kora, oslobođena osnovnog parenhima i pluta <i>Quillaja saponaria</i> Molina s.l., Rosaceae; sadrži minimalno 6,5% triterpenskih glikozida, računatih kao kvilaja saponin III (C₁₀₄H₁₆₈O₅₅, Mr 2298,0), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2011:1881 Papaveris rhoeados flos, cvijet turčinka/bulke</p> <p>Definicija droge: Osušene, cjelovite ili fragmentirane latice <i>Papaver rhoeas</i> L., Papaveraceae.</p>

<p>07/2014:1879 Ononidis radix, korijen zečjeg trna</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni korijen <i>Ononis spinosa</i> L., Fabaceae.</p>
<p>01/2015:0289 Ratanhiae radix, korijen ratanije</p> <p>Definicija droge: Osušeni, obično fragmentirani, podzemni organi <i>Krameria triandra</i> Ruiz et Pav., Krameriaceae, poznat kao peruanski ratanij; sadrži minimalno 5,0% tanina, računatih kao pirogalol (C₆H₆O₃; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2015:1888 Ratanhiae tinctura, tinktura korijena ratanije</p> <p>Tinktura izrađena od korijena ratanije, <i>Ratanhiae radix</i> (0289); sadrži minimalno 1,0% m/m tanina, računatih kao pirogalol (C₆H₆O, Mr 126,1).</p>
<p>01/2008:0291 Rhei radix, korijen rabarbare/reuma</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni podzemni organi <i>Rheum palmatum</i> L. ili <i>Rheum officinale</i> Baillon, Polygonaceae, ili hibridi ove dvije vrste ili mješavina ove dvije vrste. Podzemni organi su često podijeljeni, oslobođeni stabljike i najvećeg dijela kore sa sitnim korijenjem; sadrži ne manje od 2,2% derivata hidroksiantracena, računatih kao rein (C₁₅H₈O₆, Mr 284,2), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2012:1884 Plantaginis lanceolatae folium, list uskolisne bokvice</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni list i lisna drška <i>Plantago lanceolata</i> L., Plantaginaceae; sadrži minimalno 1,5% ukupnih derivata orto-dihidroksicinamične kiseline, računatih kao akteozid (C₂₉H₃₆O₁₅, Mr 624,6), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2013:1623 Hibisci sabdariffae flos, cvijet hibiskusa</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni kaliks i epikaliks <i>Hibiscus sabdariffa</i> L., Malvaceae, sakupljeni za vrijeme plodonošenja; sadrži minimalno 13,5% kiseline, računato kao limunska kiselina (C₆H₈O₇; Mr 192,1), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2013:1560 Rosmarini folium, list ruzmarina/ružmarina</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti, osušeni list <i>Rosmarinus officinalis</i> L., Lamiaceae; sadrži:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 12,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu; • minimalno 3,0% ukupnih hidroksicinamičnih derivata, računato kao ruzmarinska kiselina (C₁₈H₁₆O₈; Mr 360,3), u odnosu na anhidrovanu drogu.
<p>01/2008:1846 Rosmarini aetheroleum, eterično ulje ruzmarina/ružmarina</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom vršnih dijelova u cvatu <i>Rosmarinus officinalis</i> L., Lamiaceae.</p>
<p>04/2014:2555 Amomi fructus rotundus</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti, oguljeni ili neoguljeni zreli plod <i>Amomum krevanh</i> Pierre ex Gagnep. ili <i>Amomum compactum</i> Sol. ex Maton, Zingiberaceae;</p> <p>Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 50,0 mL/kg eteričnog ulja za <i>A. krevanh</i>, u odnosu na anhidrovanu drogu i minimalno 40,0 mL/kg eteričnog ulja za <i>A. compactum</i>, u odnosu na anhidrovanu drogu. • minimalno 65,0% 1,8-cineola (C₁₀H₁₈O; Mr 154,3) u eteričnom ulju.
<p>07/2014:2386 Carthami flos, cvijet šafranike</p> <p>Definicija droge: Osušeni cvijet <i>Carthamus tinctorius</i> L., Asteraceae; sadrži minimalno 1,0% ukupnih flavonoida, računato kao hiperozid (C₂₁H₂₀O₁₂; Mr 464,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2015:1370 Salviae officinalis folium, list kadulje/žalfije</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni listovi <i>Salvia officinalis</i> L., Lamiaceae; sadrži minimalno 12,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na cjelovitu anhidrovanu drogu i minimalno 10,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na sječenu anhidrovanu drogu.</p>

<p>07/2014:1561 Salviae trilobae folium, list grčke kadulje/žalfije</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni listovi <i>Salvia fruticosa</i> Mill. (sin. <i>Salvia triloba</i> L. fil), Lamiaceae; sadrži minimalno 18,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na cjelovitu anhidrovanu drogu i minimalno 12,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na sječenu anhidrovanu drogu.</p>
<p>01/2008:1889 Salviae tincture, tinktura kadulje/žalfije</p> <p>Tinktura izrađena od lista kadulje/žalfije, <i>Salviae folium</i> (1370); sadrži minimalno 0,1% m/m eteričnog ulja.</p>
<p>04/2017:2663 Salviae miltiorrhizae radix et rhizome</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani rizom i korijen <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge, Lamiaceae, sakupljeni u proljeće ili jesen; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 3,0% salvianolične kiseline B (C₃₆H₃₀O₁₆; Mr 719,0), u odnosu na suhu drogu; • minimalno 0,12% tanshinona II_A (C₁₉H₁₈O₃; Mr 294,3), u odnosu na suhu drogu.
<p>04/2008:2385 Sanguisorbae radix, korijen ljekovite krvare</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni podzemni organi <i>Sanguisorba officinalis</i> L., Rosaceae, oslobođeni sitnog korijenja; sadrži minimalno 5,0% tanina, računatih kao pirogalol (C₆H₆O₃; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2014:2579 Sabalis serrulatae extractum, ekstrakt testeraste palme</p> <p>Ekstrakt dobijen iz ploda testeraste palme, <i>Sabalis serrulatae fructus</i> (1848), Arecaceae; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 80,0% ukupnih masnih kiselina, u odnosu na anhidrovani ekstrakt; • minimalno 23,0% laurinske kiseline (C₁₂H₂₄O₂; Mr 200,3), u odnosu na anhidrovani ekstrakt; • minimalno 0,20% ukupnih sterola, računatih kao β-sitosterol (C₂₉H₅₀O; Mr 414,7), u odnosu na anhidrovani ekstrakt; • minimalno 0,10% β-sitosterola (C₂₉H₅₀O; Mr 414,7), u odnosu na anhidrovani ekstrakt.
<p>07/2012:1848 Sabalis serrulatae fructus, plod testeraste palme</p> <p>Definicija droge: Osušeni, zreli plod <i>Serenoa repens</i> (W. Bartram) Small (sin. <i>Sabal serrulata</i> (Michaux) T. Nuttall ex Schultes & Schultes), Arecaceae; sadrži minimalno 11,0% ukupnih masnih kiselina, u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2016:2428 Schisandrae chinensis fructus, plod kineske šisandre</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti, osušeni ili opareni i osušeni zreli plodovi <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill, Schisandraceae; sadrži minimalno 0,40% šisandrina (C₂₄H₃₂O₇; Mr 432,5), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2008:0202 Polygalae radix, korijen senega</p> <p>Definicija droge: Osušen i obično fragmentiran korijen i korijenova kapa <i>Polygala senega</i> L., Polygalaceae, ili drugih srodnih vrsta ili mješavine vrsta roda <i>Polygala</i>.</p>
<p>01/2015:0206 Sennae folium, list sene</p> <p>Definicija droge: Osušeni listići <i>Cassia senna</i> L. (sin. <i>Cassia acutifolia</i> Delile), poznata kao aleksandrijska sena, ili osušeni listići <i>Cassia angustifolia</i> Vahl, poznata kao indijska ili Tinnevely sena, Fabaceae, ili nekih drugih blisko srodnih vrsta ili mješavina navedenih <i>Polygala</i> vrsta; sadrži minimalno 2,5% hidroksiantracenskih heterozida, računatih kao senozid B (C₄₂H₃₈O₂₀; Mr 863), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2015:1261 Sennae folii extractum siccum normatum, standardizirani suhi ekstrakt lista sene</p> <p>Standardizirani suhi ekstrakt dobijen iz lista sene, <i>Sennae folium</i> (0206); sadrži 5,5%–8,0% hidroksiantracenskih glikozida, računatih kao senozid B (C₄₂H₃₈O₂₀; Mr 863), u odnosu na suhi ekstrakt. Sadržaj ne smije odstupati više od ± 10% od navedenog sadržaja.</p>
<p>01/2015:0207 Sennae fructus acutifoliae, plod aleksandrijske sene</p> <p>Definicija droge: Osušeni plod <i>Cassia senna</i> L. (sin. <i>Cassia acutifolia</i> Delile), Fabaceae; sadrži minimalno 3,4% hidroksiantracenskih glikozida, izraženih kao senozid B (C₄₂H₃₈O₂₀; Mr 863), u odnosu na suhu drogu.</p>

<p>01/2015:0208 Sennae fructus angustifoliae, plod indijske ili Tinnevelly sene</p> <p>Definicija droge: Osušeni plod <i>Cassia angustifolia</i> Vahl., Fabaceae; sadrži minimalno 2,2% hidroksiantracenskih glikozida, izraženih kao senozid B ($C_{42}H_{38}O_{20}$; Mr 863), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2015:2639 Sophorae japonicae flos</p> <p>Definicija droge: Osušeni, otvoreni cvijet <i>Styphnolobium japonicum</i> (L.) Schott (sin. <i>Sophora japonica</i> L.), Fabaceae; sadrži minimalno 8,0% ukupnih flavonoida, računatih kao rutin ($C_{27}H_{30}O_{16}$; Mr 611,0), u odnosu na suhu drogu; minimalno 6,0% rutina ($C_{27}H_{30}O_{16}$; Mr 611,0), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2015:2427 Sophorae japonicae flos immaturus</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti, osušeni cvjetni pupoljak <i>Styphnolobium japonicum</i> (L.) Schott (sin. <i>Sophora japonica</i> L.), Fabaceae; sadrži minimalno 20,0% ukupnih flavonoida, računato kao rutin ($C_{27}H_{30}O_{16}$; Mr 611,0), u odnosu na suhu drogu; minimalno 15,0% rutina ($C_{27}H_{30}O_{16}$; Mr 611,0), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2018:2419 Spicae aetheroleum, eterično ulje širokolisne lavande</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom vršnih dijelova u cvatu <i>Lavandula latifolia</i> Medik., Lamiceae.</p>
<p>01/2017:1438 Hyperici herba, zelen kantariona</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Hypericum perforatum</i> L., Hypericaceae, sakupljeni tokom cvjetanja; sadrži minimalno 0,08% ukupnih hipericina, računato kao hipericin ($C_{30}H_{16}O_8$, Mr 504,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2017:1874 Hyperici herbae extractum siccum quantificatum, kvantificirani suhi ekstrakt zeleni kantariona</p> <p>Kvantificirani suhi ekstrakt dobijen iz zeleni kantariona, Hyperici herba (1438). Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 0,10–0,30% ukupnih hipericina, računatih kao hipericin ($C_{30}H_{16}O_8$, Mr 504,4), u odnosu na anhidrovani ekstrakt; • minimalno 6,0% flavonoida, računatih kao rutin ($C_{27}H_{30}O_{16}$; Mr 611,0), u odnosu na anhidrovani ekstrakt; • maksimalno 6,0% hiperforina, u odnosu na anhidrovani ekstrakt i ne više od naznačenog sadržaja.
<p>01/2008:1153 Anisi stellati fructus, plod zvjezdastog anisa</p> <p>Definicija droge: Osušeni plod <i>Illicium verum</i> Hook. f., Apiaceae; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 70,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu; • minimalno 86,0% trans-anetola u eteričnom ulju.
<p>01/2008:2108 Anisi stellati aetheroleum, eterično ulje ploda zvjezdastog anisa</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz osušenih zrelih plodova <i>Illicium verum</i> Hook. f., Apiaceae.</p>
<p>01/2012:0246 Stramonii folium, list tatule/kužnjaka</p> <p>Definicija droge: Osušeni list ili osušeni list sa vršnim dijelovima u cvatu, koji nose plodove <i>Datura stramonium</i> L., Solanaceae; sadrži minimalno 0,25% ukupnih alkaloida, računatih kao hiosciamin ($C_{17}H_{23}NO_3$; Mr 289,4), u odnosu na suhu drogu. Alkaloidi se sastoje, uglavnom, od hiosciamina sa promjenjivim udjelom hioscina (skopolamin).</p>
<p>01/2008:0247 Stramonii pulvis normatus, standardizirani prašak lista tatule/kužnjaka</p> <p>Prašak lista tatule/kužnjaka (180) (2.9.12) modificiran, ukoliko je neophodno, dodatkom laktoze u formi pulvisa, ili pulvisa lista tatule/kužnjaka sa nižim sadržajem alkaloida; sadrži 0,23–0,27% ukupnih alkaloida, računatih kao hiosciamin ($C_{17}H_{23}NO_3$; Mr 289,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2008:1811 Aurantii dulcis aetheroleum, eterično ulje slatke narandže</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno odgovarajućim mehaničkim postupkom, bez upotrebe toplote, iz svježe kore <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck (<i>Citrus aurantium</i> L. var. <i>dulcis</i> L.), Rutaceae. Pogodan antioksidans može biti dodan.</p>

<p>04/2018:2634 Ligustici chuanxiong rhizoma</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentiran, pažljivo pečen dok se ne osuši, rizom <i>Ligusticum sinense</i> Oliv. 'Chuanxiong' (<i>Conioselinum anthriscoides</i> (H. Boissieu) Pimenov & Kljuykov, sin. <i>Ligusticum chuanxiong</i> Hort. ex S. H. Qiu, Y. Q. Zeng, K. Y. Pan, Y.C.Tang & J. M. Xu), Apiaceae, oslobođen sitnog korijenja, sakupljen u ljeto kada nodovi stabljike postaju uvećani i ljubičasti; sadrži minimalno 3,5 mL/kg eteričnog ulja.</p>
<p>01/2008:1837 Melaleucaae aetheroleum, eterično ulje čajevca</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom iz listova i terminalnih grančica <i>Melaleuca alternifolia</i> (Maiden and Betch) Cheel, <i>M. linariifolia</i> Smith, <i>M. dissitiflora</i> F. Mueller, Myrtaceae i/ili drugih vrsta roda <i>Melaleuca</i>.</p>
<p>01/2012:2483 Puerariae thomsonii radix</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentiran, osušen korijen <i>Pueraria thomsonii</i> Benth., Fabaceae, sa uklonjenom vanjskom korom; sadrži minimalno 0,4% ukupnih izoflavonoida, računatih kao puerarin (C₁₂H₂₀O₉; Mr 416,4), u odnosu na suhu drogu, od čega minimalno 55,0% čini puerarin.</p>
<p>07/2014:0865 Thymi herba, zelen timjana</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti listovi i cvjetovi odvojeni od prethodno osušene stabljike <i>Thymus vulgaris</i> L. ili <i>Thymus zygis</i> L., Lamiaceae, ili mješavina ove dvije vrste; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 12,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu; • minimalno 40,0% ukupnog sadržaja timola i karvakrola (oba, C₁₀H₁₄O; Mr 150,2).
<p>01/2012:1374 Thymi typo thymolo aetheroleum, eterično ulje timjana; timol-tip</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom svježih, vršnih dijelova u cvatu <i>Thymus vulgaris</i> L., <i>T. zygis</i> L., Lamiaceae ili mješavine obje vrste.</p>
<p>01/2008:1596 Balsamum toltutanum, tolu balsam</p> <p>Definicija droge: Oleorezina dobijena iz stabla <i>Myroxylon balsamum</i> (L.) Harms var. <i>balsamum</i>, Fabaceae; sadrži 25,0–50,0% slobodnih ili kombinovanih kiselina, računatih kao cinamična kiselina (C₉H₈O₂; Mr 148,2), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2010:1478 Tormentillae rhizoma, rizom trave od srdobolje/srčenjaka</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni rizom, oslobođen korijenja <i>Potentilla erecta</i> (L.) Raeusch. (<i>P. tormentilla</i> Stokes), Rosaceae; sadrži minimalno 7,0% tanina, računatih kao pirogalol (C₆H₆O₃; Mr 126,1), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2008:1895 Tormentillae tincture, tinktura trave od srdobolje/srčenjaka</p> <p>Tinktura izrađena od rizoma trave od srdobolje/srčenjaka, Tormentillae rhizoma (1478); sadrži minimalno 1,5% tanina, računatih kao pirogalol (C₆H₆O₃; Mr 126,1).</p>
<p>01/2009:0532 Tragacantha, tragakanta</p> <p>Definicija droge: Na vazduhu osušeni, gumeni eksudat, koji curi prirodno ili se dobija incizijom stabla i grana <i>Astragalus gummifer</i> Labill., Fabaceae i nekih drugih vrsta roda <i>Astragalus</i> iz zapadne Azije.</p>
<p>01/2015:1441 Curcumae zanthorrhizae rhizoma, rizom indonezijske kurkume</p> <p>Definicija droge: Osušeni rizom, sječen na kriške <i>Curcuma zanthorrhiza</i> Roxb. (sin. <i>C. zanthorrhiza</i> D. Dietrich), Zingiberaceae; Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 50,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu; • minimalno 1,0% dicinamoil-metan derivata, računatih kao kurkumin (C₂₁H₂₀O₆; Mr 368,4), u odnosu na anhidrovanu drogu.

<p>01/2015:2543 Curcumae longae rhizoma, rizom kurkume/indijskog šafrana</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti, osušen (ključalom vodom ili parom) rizom <i>Curcuma longa</i> L. (sin. <i>Curcuma domestica</i> Valetton), Zingiberaceae, odstranjene vanjske kore i korijenja.</p> <p>Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 25,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu; • minimalno 2,0%, dicinamoil-metan derivata, računatih kao kurkumin ($C_{21}H_{20}O_6$; Mr 368,4), u odnosu na anhidrovanu drogu.
<p>07/2014:1627 Terebinthinae aetheroleum, eterično ulje mediteranskog bora</p> <p>Definicija droge: Eterično ulje dobijeno destilacijom vodenom parom, nakon čega slijedi rektifikacija na temperaturi ispod 180°C iz oleorezina dobijenih iz <i>Pinus pinaster</i> Aiton i/ili <i>Pinus massoniana</i> D. Don, Pinaceae. Pogodan antioksidans može biti dodan.</p>
<p>01/2018:2729 Uncariae rhynchophyllae ramulus cum uncis</p> <p>Definicija droge: Fragmenti osušene grane ili stabljike <i>Uncaria rhynchophylla</i> (Miq.) Miq. ex Havil., Rubiaceae, sadrži minimalno 0,2% ukupnih alkaloida, računatih kao izorinkofilin ($C_{22}H_{28}N_2O_4$; Mr 384,5), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>07/2010:2400 Valerianae extractum aquosum siccum, suhi vodeni ekstrakt macine trave/odoljena</p> <p>Ekstrakt dobijen iz korijena macine trave/odoljena, <i>Valerianae radix</i> (0453); sadrži minimalno 0,02% seskviterpenskih kiselina, računatih kao valerenska kiselina ($C_{15}H_{22}O_2$; Mr 234,3), u odnosu na suhi ekstrakt.</p>
<p>07/2014:1898 Valerianae extractum hydroalcoholicum siccum, suhi vodenoalkoholni ekstrakt macine trave/odoljena</p> <p>Ekstrakt dobijen iz korijena macine trave/odoljena, <i>Valerianae radix</i> (0453); sadrži minimalno 0,25% m/m seskviterpenskih kiselina, računatih kao valerenska kiselina ($C_{15}H_{22}O_2$; Mr 234,3), u odnosu na suhi ekstrakt.</p>
<p>04/2017:0453 Valerianae radix, korijen macine trave/odoljena</p> <p>Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili fragmentirani podzemni organi <i>Valeriana officinalis</i> L. s.l., Valerianaceae, uključujući rizome okružene korijenjem i stolonima.</p> <p>Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 4,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na suhu drogu; • minimalno 0,17% m/m seskviterpenskih kiselina, računatih kao valerenska kiselina ($C_{15}H_{22}O_2$; Mr 234,3), u odnosu na suhu drogu.
<p>04/2017:2526 Valerianae radix minutata, sječeni korijen macine trave/odoljena</p> <p>Definicija droge: Osušeni, sječeni podzemni organi <i>Valeriana officinalis</i> L. s.l., Valerianaceae, uključujući rizome, korijenje i stolone. Dobijen iz korijena valerijane, <i>Valerianae radix</i> (0453) u svrhu upotrebe u biljnim čajevima.</p> <p>Propisani sadržaj:</p> <ul style="list-style-type: none"> • minimalno 3,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na suhu drogu; • minimalno 0,10% m/m seskviterpenskih kiselina, računatih kao valerenska kiselina ($C_{15}H_{22}O_2$; Mr 234,3), u odnosu na suhu drogu.
<p>07/2010:1899 Valerianae tinctura, tinktura korijena macine trave/odoljena</p> <p>Tinktura izrađena od korijena valerijane, <i>Valerianae radix</i> (0453); sadrži minimalno 0,015% m/m seskviterpenskih kiselina, računatih kao valerenska kiselina ($C_{15}H_{22}O_2$; Mr 234,3).</p>
<p>07/2012:1854 Verbenae herba, zelen verbena</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani, nadzemni dijelovi <i>Verbena officinalis</i> L., Verbenaceae, sakupljeni tokom cvjetanja; sadrži minimalno 1,5% verbenalina ($C_{17}H_{24}O_{10}$; Mr 388,4), u odnosu na suhu drogu.</p>
<p>01/2019:1835 Marrubii herba, zelen marulje/očajnice</p> <p>Definicija droge: Cjeloviti ili fragmentirani osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Marrubium vulgare</i> L., Lamiaceae; sadrži minimalno 0,7% marubina ($C_{20}H_{28}O_4$; Mr 332,4), u odnosu na suhu drogu.</p>

01/2008:1855 <i>Violae herba cum flore, herba sa cvjetovima divlje maćuhice</i>
Definicija droge: Osušeni, vršni dijelovi u cvatu <i>Viola arvensis</i> Murray i/ili <i>Viola tricolor</i> L., Violaceae; sadrži minimalno 1,5% flavonoida, računato kao violantin ($C_{27}H_{30}O_{14}$; Mr 578,5), u odnosu na suhu drogu.
07/2014:1891 <i>Serpylli herba, zelen majčine dušice</i>
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni, vršni dijelovi u cvatu <i>Thymus serpyllum</i> L., Lamiaceae; sadrži minimalno 3,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na suhu drogu.
01/2013:1583 <i>Salicis cortex, kora vrbe</i>
Definicija droge: Cjelovita ili fragmentirana osušena kora mladih grana ili cjelovite osušene grančice sakupljene u tekućoj godini različitih vrsta roda <i>Salix</i> , uključujući <i>S. purpurea</i> L., <i>S. daphnoides</i> Vill. i <i>S. fragilis</i> L., Salicaceae; sadrži minimalno 1,5% ukupnih salicilnih derivata, računatih kao salicin ($C_{13}H_{18}O_7$; Mr 286,3), u odnosu na suhu drogu.
04/2008:2312 <i>Salicis corticis extractum siccum, suhi ekstrakt kore vrbe</i>
Suhi ekstrakt dobijen iz kore vrbe, <i>Salicis cortex</i> (1583); sadrži minimalno 5,0% ukupnih salicilnih derivata, računatih kao salicin ($C_{13}H_{18}O_7$; Mr 286,3), u odnosu na suhi ekstrakt.
04/2011:1380 <i>Absinthii herba, zelen pelina/pelena</i>
Definicija droge: Osušeni, cjeloviti ili sječeni bazalni listovi ili nadzemni vršni dijelovi u cvatu ili mješavina navedenih biljnih organa <i>Artemisia absinthium</i> L., Asteraceae; sadrži minimalno 2,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na suhu drogu.
07/2014:1382 <i>Millefolii herba, zelen kunice/stolisnika</i>
Definicija droge: Cjeloviti ili sječeni, osušeni vršni dijelovi u cvatu <i>Achillea millefolium</i> L., Asteraceae; sadrži minimalno 2,0 mL/kg eteričnog ulja u odnosu na suhu drogu, minimalan udio proazulena od 0,02%, računatih kao hamazulen ($C_{14}H_{16}$; Mr 184,3), u odnosu na suhu drogu.
01/2017:2656 <i>Zanthoxyli bungeani pericarpium</i>
Definicija droge: Osušeni perikarp zrelog voća, sa uklonjenim sjemenom, <i>Zanthoxylum bungeanum</i> Maxim., Rutaceae; sadrži minimalno 15,0 mL/kg eteričnog ulja, u odnosu na anhidrovanu drogu.



6



NEFARMAKOPEJSKI DODATAK

6. NEFARMAKOPEJSKI DODATAK

SMJERNICE DOBRE PRIPREME LIJEKOVA U APOTECI

Kako lijekovi koje proizvodi farmaceutska industrija nisu uvijek odobreni ili dostupni za pokrivanje posebnih potreba pojedinih pacijenata, izrada farmaceutskih preparata (magistralnih i galenskih lijekova) predstavlja važan segment farmaceutske zdravstvene djelatnosti.

Uporedo sa porastom značaja izrade farmaceutskih preparata, raste i potreba za sistemskim rješenjem ovog vida farmaceutske djelatnosti kroz zakonsku i podzakonsku regulativu, kao i razvoj i harmonizaciju odgovarajućih standarda kojima se osigurava kvalitet i bezbjednost.

Ove smjernice imaju za cilj dati preporuke dobre prakse u pripremi farmaceutskih preparata u apotekama, kako bi se osigurao kvalitet kao bitna potpora djelotvornosti i sigurnosti farmaceutskog preparata.

Kvalitet, efikasnost i bezbjednost preparata koje priprema farmaceut ne ovise samo o njegovoj profesionalnosti, naučnoj stručnosti i kontinuiranoj komunikaciji s ljekarom i pacijentom. Oni ovise o pažljivoj organizaciji rada i stalnoj kontroli koju magistar farmacije posvećuje poslu pripreme lijeka u svim fazama, pa tako i nakon njegovog izdavanja. Organizacija učinkovitog uvezanog sistema koji jamči kontinuiranu kontrolu i sljedivost rada u apoteci odgovara na temeljnu potrebu za očuvanjem zdravlja pacijenata. Na taj način se daje određena sigurnost magistru farmacije i tijelima nadležnim za nadzor nad primjenom propisa.

Dobra praksa pripreme lijekova u apotekama temelji se na sljedećim opštim načelima:

- primjerenost strukturnih, instrumentalnih, ljudskih, organizacijskih i upravljačkih resursa vrsti i obimu posla koje obavlja apoteka
- utvrđivanje odgovornosti
- kvalitet sirovina
- stalna i dokumentovana kontrola svih faza rada
- održavanje, kalibracija i ažuriranje instrumenata
- kontinuirana edukacija osoblja.

Priprema lijekova u apotekama nije usklađena među državama u Evropi i predstavlja nacionalnu nadležnost država članica potpisnica Konvencije.

U nastavku će biti prikazane dobre prakse izrade farmaceutskih preparata kroz određene aspekte u izradi, a zahtjevi propisani entitetskim propisima kao i propisima Brčko distrikta nisu predmetom ovih smjernica.

Evropska farmakopeja (Ph. Eur.) u općoj monografiji 2619 Farmaceutski preparati daje definiciju farmaceutskih preparata koji se izrađuju u apotekama, smjernice za proizvodnju, ispitivanja, način čuvanja. Prema monografiji, ovi preparati su ljekoviti proizvodi koji se obično sastoje od aktivnih supstanci koje se mogu kombinovati s ekscipijensima, formuliranim u farmaceutski oblik pogodan za predviđenu upotrebu, ako je potrebno nakon rekonstitucije, a koji se nalaze u prikladnom i odgovarajuće označenom pakovanju.

Izrađuju se prema posebnim potrebama pacijenata u skladu sa važećom legislativom.

Dvije su kategorije ovih nelicenciranih farmaceutskih preparata:

- magistralni (*ex tempore*) izrađeni preparati, tj. farmaceutski preparati pojedinačno pripremljeni za određenog pacijenta ili grupu pacijenata, a koji se koriste nakon pripreme;
- galenski preparati, tj. farmaceutski preparati pripremljeni unaprijed na osnovu važećih farmakopeja ili magistralnih formula u galenskoj laboratoriji apoteke, u malim serijama i pohranjeni do zaprimanja zahtjeva za isporuku.

Vijeće Evrope je 2016. godine usvojilo Rezoluciju CM / Res (2016) 1 i 2 (u daljem tekstu: Rezolucija) o zahtjevima osiguranja kvaliteta i sigurnosti lijekova koji se pripremaju u apotekama za posebne potrebe pacijenata i dobroj praksi rekonstitucije u zdravstvenim ustanovama za lijekove za parenteralnu primjenu.

Rezolucija se odnosi samo za lijekove za humanu upotrebu i obuhvata sve farmaceutske preparate – magistralne (*ex-tempore*) ili galenske preparate (*stock preparation*).

Prema Rezoluciji, sigurnost pacijenata i postizanje terapijskog cilja zahtijevaju da lijekovi pripremljeni u apotekama ispunjavaju odgovarajuće i specifične zahtjeve kvaliteta, sigurnosti i dodane vrijednosti i tamo gdje nije potrebna dozvola za stavljanje u promet.

Kako bi se izbjegle razlike u kvalitetu i sigurnosti lijekova koji se pripremaju u apoteci i onih koji se pripremaju u industriji, Rezolucijom su opisani sljedeći aspekti koje je potrebno definirati u zakonodavstvu pojedine države:

- dodana vrijednost (*added value*) magistralnih preparata (opravdanost pripreme farmaceutskog preparata) i odgovornosti zdravstvenih radnika
- proces pripreme
- dokumentacija o izradi
- odobrenje za stavljanje u promet
- označavanje
- usklađenost sa farmakopejskim zahtjevima
- rekonstitucija lijekova
- odobrenje za apoteke ili, ako nije obuhvaćeno drugim nacionalnim zakonodavstvom ili smjernicama, licence za ustanove koje proizvode preparate za apoteke
- transparentnost i sigurnost
- racionalno korištenje
- nadzor
- komunikacija i informisanje pacijenata
- distribucija farmaceutskih preparata.

Dodanu vrijednost farmaceutskih preparata prema Rezoluciji imaju farmaceutski preparati koji su zbog medicinskih, farmaceutskih ili specifičnih razloga potrebni određenom pacijentu ili određenim grupama stanovništva sa posebnim potrebama. Prije pripreme, farmaceut bi trebao provjeriti da li je farmaceutski ekvivalent dostupan na nacionalnom tržištu, uzimajući u obzir farmaceutski oblik i jačinu. Farmaceutski preparati nisu preporučljivi ako je pogodan farmaceutski proizvod dostupan na tržištu sa odobrenjem za stavljanje u promet.

Proces pripreme

Svi preparati pripremljeni u apoteci trebaju biti pripremljeni korištenjem odgovarajućeg sistema osiguranja kvaliteta. Prije pripreme uvijek treba provesti procjenu rizika kako bi se definisao nivo sistema osiguranja kvaliteta koji treba primijeniti.

Rezolucijom je opisan mogući postupak za procjenu rizika koji se zasniva na razlikovanju dva nivoa rizika („pripreme visokog rizika” i „pripreme s niskim rizikom”)

Procjena rizika farmaceutskog preparata

Prilikom izrade farmaceutskog preparata, farmaceut uvijek treba preduzeti odgovarajuću procjenu rizika kako bi se ispunili zahtjevi kvaliteta koje treba primijeniti u pripremi lijeka.

Ova procjena rizika treba uzeti u obzir:

- a. oblik doziranja i način primjene
- b. pripremljenu količinu
- c. farmakološku efikasnost lijeka za predviđeni put primjene
- d. terapijsku širinu (raspon doza za terapijske doze)
- e. vrsta procesa pripreme
- f. snabdijevanje.

Procjena rizika treba uzeti u obzir udio aktivnih farmaceutskih sastojaka, ekscipijenasa i spremnika u sigurnosnom profilu magistralnog preparata. Gdje je prikladno, treba koristiti aktivne farmaceutske supstance proizvedene prema GMP-u i analizirane prema farmakopejskim standardima.

Kriteriji za procjenu rizika

U nastavku su navedeni kriteriji odluke za procjenu rizika farmaceutskih preparata.

Svaki kriterij odluke ima stepenovan faktor rizika u rasponu od 1 do 5. Umnožavanjem ovih faktora rizika dobija se vrijednost koja označava nivo sistema kvaliteta potrebnog za proces pripreme.

Ako je broj veći od 100, preparat se smatra „preparatom visokog rizika“; ako je broj jednak ili manji od 100, smatra se „preparatom niskog rizika“.

Rezolucija preporučuje da se GMP (*Good Manufacturing practice* – Dobra proizvođačka praksa) koristi kao smjernice za odgovarajući sistem kvaliteta za „preparate visokog rizika“, a da se Vodič za dobru praksu izrade preparata u zdravstvenim ustanovama (*Guide to good practices for the preparation of medicinal products in health care establishments - PIC/S Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme*) koristi za „preparate niskog rizika“. Primjena drugih smjernica sa ekvivalentnim nivoom kvaliteta je moguća, zavisno od nacionalnog zakonodavstva ili smjernica.

Matrica odluke zasnovana na riziku

1. Vrsta pripreme:

Vrsta pripreme	Ocjena
Parenteralni preparati	5
Preparati za oči koji se koriste u traumi ili operaciji	4
Preparati za inhalaciju	4
Oblici doziranja za sterilnu probavnu primjenu (kao što su oralna, sublingvalna i rektalna administracija)	4
Kožni i transdermalni preparati	4
Dozirani oblici za probavnu primjenu (kao što su oralna, sublingvalna i rektalna administracija)	3
Preparati za oči koji se koriste na netaknutom oku	1
Kožni i transdermalni preparati/oblici doziranja gdje nije potrebna sterilnost	1

2. Količina koja se priprema godišnje (u jedinicama)

Zavisno od vrste pripreme i količina koje se pripremaju godišnje treba odrediti faktor rizika između 1 i 5, s tim da je faktor rizika 1 za vrlo male količine:

Količina koja se priprema godišnje (jedinice)	Ocjena, faktor rizika
Tečni i čvrsti preparati (npr. praškovi)	1
Oralni preparati (čvrsti oblici doziranja)	
Rektalni preparati	
Kožni i transdermalni preparati	
Preparati za oči	

3. Farmakološko dejstvo aktivnih supstanci

Farmakološko dejstvo aktivnih supstanci	Ocjena, faktor rizika
Vrlo jako	5
Jako	3
Slabo	1

Prilikom ocjenjivanja farmakološkog dejstva aktivne supstance potrebno je uzeti u obzir sljedeće kriterije: (ne) postojanje farmakopejske monografije, kancerogene osobine, mutagene osobine, ekološka toksičnost, rizik od alergije, terapijska širina, doza, stabilnost (svjetlost, kiseonik, temperatura, promjene pH) te hemijski, farmaceutski i mikrobiološki kvalitet.

4. Proces pripreme

<i>Proces pripreme</i>	<i>Ocjena, faktor rizika</i>
Aseptično punjenje	5
Terminalna sterilizacija	4
Rastvaranje, miješanje, ne u svrhu rekonstitucije	2
Razblaživanje ne u svrhu rekonstitucije	2
Dopunjavanje samo (za nesterilne proizvode)	1

5. Način distribucije*

<i>Način primjene</i>	<i>Ocjena, faktor rizika</i>
Samo eksterno	5
Uglavnom eksterno (interno/eksterno, približno u odnosu 1:2)	4
Interno i eksterno (interno/eksterno, približno u odnosu 1:1)	3
Uglavnom interno (interno/eksterno, približno u odnosu 2:1)	2
Samo interno	1

* Praksa u zemljama EU, a postupanje u Bosni i Hercegovini treba biti u skladu sa nacionalnim propisima.

DOKUMENTACIJA O IZRADI PREPARATA

Karakteristike kvaliteta specifične za izradu preparata potrebno je dokumentovati kroz sljedeće podatke:

1. Dodana vrijednost i proces pripreme farmaceutskog preparata:
 - a. opis finalnog procesa pripreme
 - b. demonstracija dodane vrijednosti farmaceutskog preparata
2. Sastav:
 - a. funkcija
 - b. dokaz da aktivni farmaceutski sastojci, pomoćne supstance i spremnici odgovaraju relevantnim zahtjevima, uzimajući u obzir specifične potrebe pacijenata
 - c. specifikacije i sljedivost porijekla polaznih materijala
 - d. specifikacije primarnog pakovanja, itd.
3. Kontrole u toku procesa i kontrole kvaliteta gotovog proizvoda:
 - a. postupci specifični za proizvod
 - b. evidencija o pripremi serija
4. Kontrole u toku procesa i kontrola kvaliteta gotovog proizvoda:
 - a. uzorkovanje
 - b. analitičke metode
 - c. kriterijumi prihvatljivosti itd.
5. Rezultati testnih serija (odnosno, informacije o razvoju, dodatnim znanjima i evaluaciji procesa pripreme, uključujući testiranje).
6. Validacija:
 - a. validacija procesa pripreme
 - b. validacija analitičkih metoda
7. Razmatranja stabilnosti:
 - a. plan za vlastite studije stabilnosti
 - b. evaluacija podataka o stabilnosti, itd.
8. Upotreba proizvoda i informacije za pacijenta.

Sadržaj i pojedinosti informacija zavise od procjene rizika, koju je potrebno dokumentovati. Dokumentacija o proizvodu trebala bi biti detaljnija za preparate koji nose veći rizik nego za one koji nose manji rizik.

Za preparate koji se izrađuju *ex-tempore*, dokumentacija obično neće biti kompletna. Za ove preparate potrebno je uzeti u obzir rizike za pacijenta, koji uključuju rizike koje predstavlja lijek bez dokumentacije koja navodi dodanu vrijednost magistralnog pripravka i sistem obezbjeđenja kvaliteta koji se primjenjuje na njegovu proizvodnju, u odnosu na rizike povezane sa nedostupnošću ovog lijeka.

KONTROLA KVALITETA

Kontrola kvaliteta predstavlja dio dobre prakse u izradi magistralnih i galenskih preparata, koja obuhvata uzorkovanje, specifikaciju i ispitivanje. Takođe, uključuje organizaciju, dokumentaciju i procedure koje osiguravaju odgovarajuća ispitivanja prije upotrebe polaznih supstanci i farmaceutskog preparata.

Kvalitet sirovina

Aktivni farmaceutski sastojci i pomoćne supstance koje se koriste za farmaceutske preparate, kao i oblici doziranja i spremnici, moraju biti u skladu sa farmakopejskim zahtjevima. Sve supstance trebaju biti u skladu s općom monografijom Evropske farmakopeje 2034 „Supstance za farmaceutsku upotrebu“.

Svaka supstanca treba imati navedeno:

- porijeklo i naziv proizvođača ili proizvodnu seriju
- rok upotrebe
- certifikat analize u kojem se navodi usklađenost sa zahtjevima farmakopeje ili specifikacijama kvalitete proizvođača, rok upotrebe, uslove skladištenja i rukovanja
- sve prisutne nečistoće i njihovu koncentraciju.

Preporuka je da se supstance čuvaju u originalnom pakovanju, pod uslovom da je ono odgovarajuće. Ukoliko se vrši razmjeravanje iz originalnog pakovanja, različite serije polazne supstance se ne miješaju. Na takav način će se obezbijediti razdvajanje serija i omogućiti rotacija zaliha (u zavisnosti od roka upotrebe). Svaki prijem polaznih supstanci se mora evidentirati.

Zaprimljene supstance trebaju se čuvati u odgovarajućim uslovima temperature, vlažnosti i svjetlosti, propisanim od proizvođača, odnosno na način kako propisuje farmakopeja. Kontrola uslova čuvanja se uvijek evidentira.

Prije upotrebe, supstance trebaju biti podvrgnute provjerama kako bi se utvrdila njihova prikladnost za upotrebu. Kontrola bi trebala uključivati kvalitativnu i kvantitativnu analizu aktivnog sastojka i srodnih tvari čija koncentracija mora biti sadržana u granicama prihvatljivosti navedenim u specifikacijama kvalitete. Certifikat analize proizvođača sa rezultatima i specificiranim granicama može se prihvatiti, ali ostaje odgovornost magistra farmacije da utvrdi identitet, stanje očuvanosti, rok upotrebe za svaku upotrijebljenu supstancu. Kad god je moguće, farmaceut treba potvrditi identitet supstance (organoleptičkom analizom, raspoloživim instrumentalnim i/ili hemijskim metodama: tačka topljenja, pH vrijednost, specifične hemijske reakcije, i slično).

Biljne droge se moraju dostaviti u apoteku u neotvorenom pakovanju, sa sljedećim podacima na naljepnici, pored onoga što je prethodno navedeno:

- naziv droge i botanički naziv biljke prema naučnom nazivu vrste koja je službeno priznata i prihvaćena u farmakopejama ili posebno kvalificiranim naučnim dokumentima, s mogućim navođenjem, u zagrada, najčešće korištenih sinonima
- porijeklo droge; da li je dobijena iz samonikle ili gajene vrste
- datum sakupljanja, pakiranja i rok upotrebe
- izgled droge (ako je prah s naznakom broja i sita usitnjenosti)
- sadržaj, koji se mora odnositi na aktivni sastojak/sastojke ili karakteristične sastojke ili druge specifične karakteristike navedene u pojedinačnim monografijama.

Kontrola kvaliteta farmaceutskih preparata

Odgovorni magistar farmacije trebao bi, bez obzira na vrstu i količinu pripremljenog preparata, provesti neke provjere gotovog proizvoda, koje provodi osoblje s dokumentovanom obukom i radnim iskustvom. U sljedećoj tabeli dat je vodič za provjeru preparata izrađenih u apoteci, na osnovu smjernica iz 11. izdanja Italijanske farmakopeje, paragraf 8: Kontrola kvaliteta preparata.

Provjere koje se trebaju provesti na gotovom proizvodu	Preparati	Pojedinačne doze	Otopine	Emulzije
Provjera ispravnosti provedenih postupaka	DA	DA	DA	DA
Kontrola izgleda	DA	DA	DA	DA
Kontrola pakovanja i posebno njegove nepropusnosti	DA	DA	DA	DA
Provjera ispravnog sastava etikete uključujući navođenje načina skladištenja i prodaje	DA	DA	DA	DA
Ujednačenost mase koja se mora utvrditi na uzorku čija veličina ovisi o brojčanoj konzistenciji oblika doze. Nijedan dozni oblik uzorka ne smije odstupati od ± 10 posto prosječne težine. U slučaju kapsula, provjera ujednačenosti mase provodi se na punim kapsulama.	NE	DA	NE	NE
Količina ili broj doza koje se trebaju izdati.	NE	DA	NE	NE
Pojava i odsutnost čestica vidljivih golim okom	NE	NE	DA	NE
pH vrijednost, ukoliko je potrebno	NE	NE	DA	NE
Izgled preparata	NE	NE	NE	DA
Disperzibilnost faza	NE	NE	NE	DA

Generalno, zbog nemogućnosti laboratorijskog ispitivanja **magistralnog preparata** i potrebe izdavanja pacijentu, kontrola kvaliteta magistralnog preparata obavlja se na osnovu dobrih praksi, osiguranjem dokumentovanog praćenja svih sastojaka i svake faze procesa izrade. Bilo koja odstupanja potrebno je pažljivo evaluirati.

ROKOVI UPOTREBE

U nastavku su date smjernice iz literature kao pomoć farmaceutima u određivanju rokova upotrebe farmaceutskih preparata.

Rokovi upotrebe dermalnih podloga*

Kod industrijski proizvedenih dermalnih podloga proizvođač daje informaciju o stabilnosti (roku trajanja) prije otvaranja originalne ambalaže („Upotrebljivo do...“). Ukoliko rok trajanja nije naznačen, preporučuje se upotreba informacija o stabilnosti i roku upotrebe iz Aneksa I DAC ili ove tabele.

Nakon otvaranja u apoteci potrebno je odrediti rok upotrebe. On ne smije prekoračiti rok trajanja koji je odredio proizvođač. Podloga se može koristiti do zadnjeg dana navedenog roka upotrebe. Nakon toga slijedi rok upotrebe za pacijenta.

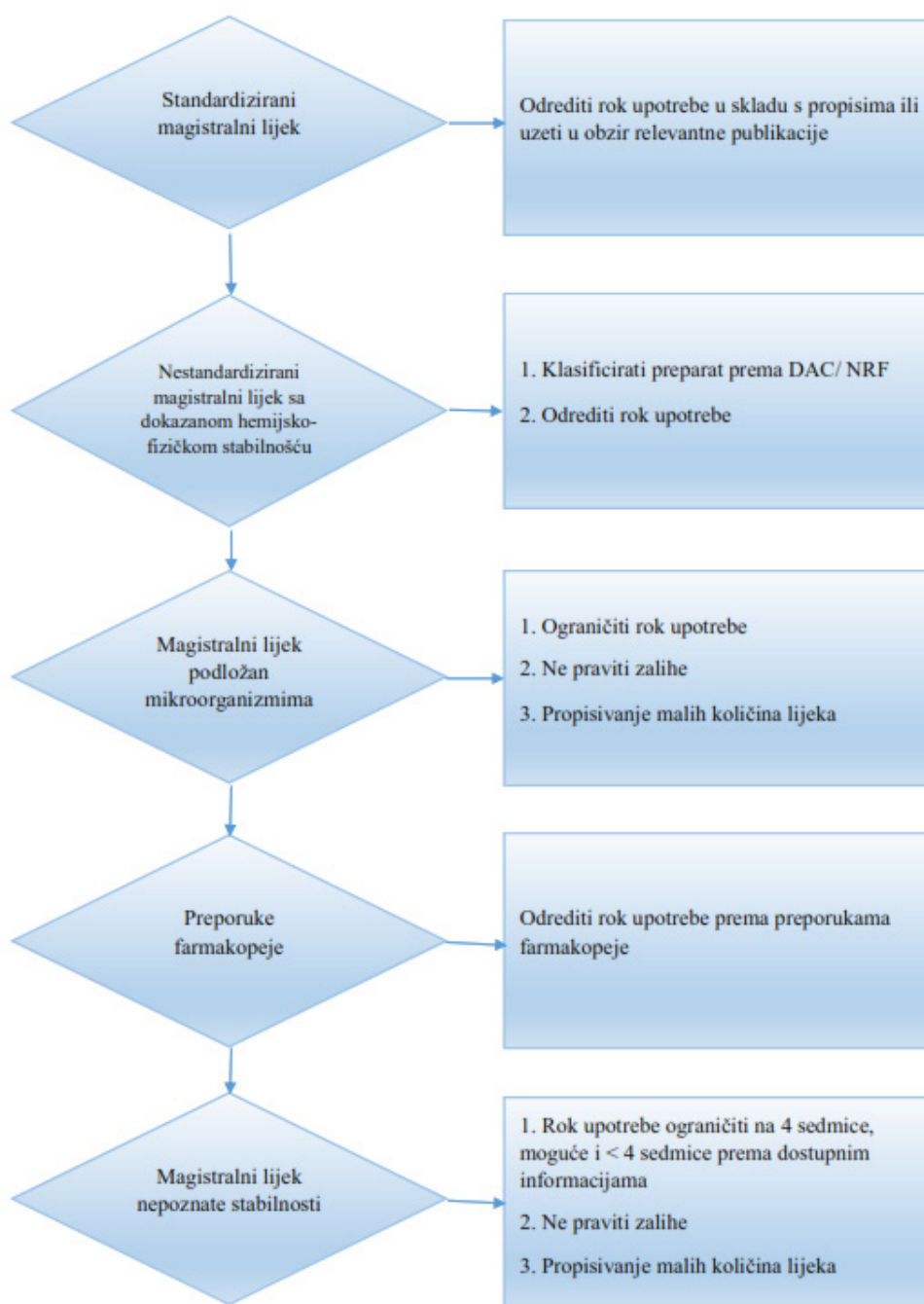
Vrsta podloge i primjeri	Stabilnost (rok trajanja) prije otvaranja	Rok upotrebe
Hidrofobne masti, masti koje upijaju vodu, lipofilni gelovi		
Čvrsta mast, Ph. Eur.	5 godina	5 godina
Bijeli vazelin, Ph. Eur.	5 godina	5 godina
Žuti vazelin, Ph. Eur.	5 godina	5 godina

Hidrofilna mast, DAB	5 godina	5 godina
Mast lanolinskih alkohola, DAB	3 godine	2 godine
Mast lanolinskih alkohola SR sa žutim vazelinom, DAC	3 godine	2 godine
Mast lanolinskih alkohola SR sa bijelim vazelinom, DAC	3 godine	2 godine
Hidrofobni bazni gel, DAC	5 godina	5 godina
Emulgirajući hidrofobni bazni gel, DAC	5 godina	5 godina
Periva podloga za mast, DAC (NRF S.31.)	3 godine	3 godine
Lipofilne kreme (kreme V/U tipa)		
Hidrofobna bazna krema, DAC (NRF S.41.)	2 godine	6 mjeseci
Meka krema, DAC	1 godina	3 mjeseca
Hladna krema, DAB (0,05% antioksidansa)	1 godina	3 mjeseca (frižider)
Lanolin, DAB	1 godina	3 mjeseca
Krema lanolinskih alkohola, DAB (neKonzervirana)	1 godina	3 mjeseca
Krema lanolinskih alkohola SR sa žutim vazelinom, DAC (neKonzervirana)	1 godina	3 mjeseca
Krema lanolinskih alkohola SR sa bijelim vazelinom, DAC (neKonzervirana)	1 godina	3 mjeseca
Hidrofilne masti		
Makrogolna mast, DAC	5 godina	3 godine
Hidrofilne kreme (kreme U/V tipa) i hidrofilne emulzije		
Hidrofilne kreme su obično konzervirane ili sadrže propilen glikol. Kreme bez konzervanasa su isključivo namijenjene za proizvodnju magistralnih lijekova, a ne za proizvodnju većih količina za zalihe. Trebaju se praviti po potrebi. Rok upotrebe bi trebao biti ograničen na jednu sedmicu, odnosno 2 sedmice ako se čuvaju u frižideru.		
Anionska hidrofilna krema, DAB	1 godina	6 mjeseci
Nejonska hidrofilna krema, DAB	1 godina	6 mjeseci
Bazna krema, DAC	3 godine	6 mjeseci
Nejonska hidrofilna krema, SR DAC (NRF S.26.)	1 godina	6 mjeseci
Nejonski liniment s vodom, DAC (NRF S.39.)	1 godina	6 mjeseci
Anionska hidrofilna krema, SR DAC (NRF S.27.)	1 godina	6 mjeseci
Liniment s vodom, SR DAC (NRF S.40.)	1 godina	6 mjeseci
Hidrofilna bazna emulzija, DAC (NRF S.25.)	1,5 godina	6 mjeseci
Hidrofilni gelovi		
Hidrofilni gelovi su obično konzervirani ili sadrže alkohol. Gelovi bez konzervanasa su isključivo namijenjeni za proizvodnju magistralnih lijekova, a ne za proizvodnju većih količina za zalihe. Trebaju se praviti po potrebi. Rok upotrebe bi trebao biti ograničen na jednu sedmicu, odnosno 2 sedmice ako se čuvaju u frižideru.		
Karbomerni gel pH 5 / pH 6,5 (NRF S.43.)	3 godine (staklena boca širokog grla, aluminijska tuba), 3 mjeseca (lončić)	3 mjeseca (staklena boca širokog grla, lončić), 1 godina (aluminijska tuba)
Karbomerni gel s vodom, DAB	1 godina	6 mjeseci
Karbomerni gel s 2-propanolom, DAB	1 godina	6 mjeseci
Karmeloza-natrij gel, DAB	1 godina	6 mjeseci
Hidroksietilcelulozni gel, DAB	1 godina	6 mjeseci
Termogel (NRF S.51.)	1 godina	1 godina
Podloga za gel za pranje (NRF S.37.)	1 godina	1 godina
Paste, losioni		
Hipromelozna adhezivna pasta 40% (NRF S.42.)	3 godine	3 godine
Cink oksid losion, DAC (NRF 11.22.)	2 godine	6 mjeseci

Cink oksid losion s etanolom (NRF 11.3.)	3 godine	6 mjeseci
Cinkova pasta, DAB	5 godina	5 godina
Meka cinkova pasta, DAB (NRF 11.21.)	5 godina	5 godina
Alkoholno-vodene smjese		
Smjese etanol-voda, DAB (i analozi)	5 godina	3 godine
Smjese 2-propanol-voda, DAC	5 godina	3 godine

Preporuke za određivanje roka upotrebe*

Rokovi upotrebe se eksperimentalno mogu samo uslovno odrediti simulacijom uvjeta upotrebe („stabilnost nakon otvaranja“). Stoga se prilikom određivanja roka upotrebe magistralnog lijeka moraju uzeti u obzir različiti faktori, i to kako prilikom standardizacije u NRF-u, tako i u apotekarskoj praksi za pojedinačne formulacije. Proces odlučivanja detaljno je opisan u pet šematski prikazanih slučajeva.



Smjernice za specifične dozne oblike*

Smjernice predlažu naznačavanje rokova upotrebe za hemijski i fizički stabilne magistralne lijekove u više-doznim spremnicima. Datum isteka roka upotrebe, odnosno trajanja, uglavnom se treba računati od dana proizvodnje, ali se dan proizvodnje ne uključuje. „Nekonzervirano“ kao atribut vodenih dozirnih oblika znači podložno mikroorganizmima, a „konzervirano“ mikrobiološki dovoljno stabilno.

Parenteralne i preparate za intravezikalnu primjenu, te nekonzervirane (mikrobiološki osjetljive) vodene otopine za okularnu primjenu i za liječenje rana ne treba pakovati u višedozne spremnike. Stoga, s izuzetkom određenih sklerozirajućih otopina, nisu date smjernice. Jednodozna pakovanja preporučuju se i za neke druge nekonzervirane vodene preparate za lokalnu primjenu.

Dozni oblik	Rok upotrebe	Napomena
Čvrsti preparati		
Granulati	1 godina	-
Kapsule	1 godina	-
Prašci	1 godina	-
Supozitorije		
Podloga čvrsta mast	1 godina	„Cvjetanje masti“ se u pravilu ne smatra defektom kvaliteta.
Podloga makrogol, kakao maslac	1 godina	-
Podloga glicerol-želatin, nekonzervirana	4 sedmice	-
Čajne mješavine		
Izrezane, bez isparljivih sastojaka	1 godina	Stepen usitnjenosti ≥ 2800
Izrezane, sa isparljivim sastojcima (eteričnim uljima)	Varijabilno, prema DAC-Aneksu I	Stepen usitnjenosti ≥ 2800
Sprašene, bez isparljivih sastojaka	6 mjeseci	-
Sprašene, sa isparljivim sastojcima (eteričnim uljima)	2 sedmice	-
Polučvrsti preparati		
Dermalna, nazalna, rektalna, vaginalna i primjena u usnoj šupljini		
Hidrofobne masti, masti koje upijaju vodu, lipofilni gelovi, uključujući odgovarajuće paste		
Tuba, lončić	1 godina	-
Lončić s poklopcem na navoj	6 mjeseci	Izuzetak npr. kod vrlo visoke konzistencije
Lipofilne kreme, uključujući odgovarajuće paste		
Konzervirane; tuba	1 godina	-
Konzervirane; lončić	6 mjeseci	-
Konzervirane; lončić s poklopcem na navoj	4 sedmice	Izuzetak npr. kod inkompatibilnosti s tubama
Nekonzervirane; tuba, lončić	4 sedmice	-
Hidrofilne masti, uključujući odgovarajuće paste		
Tuba, lončić	1 godina	-
Hidrofilne kreme, hidrogelovi, uključujući odgovarajuće paste		
Konzervirane; tuba	1 godina	-
Konzervirane; lončić	6 mjeseci	-
Konzervirane; lončić s navojem	4 sedmice	Izuzetak npr. kod inkompatibilnosti s tubama
Nekonzervirane; tuba, lončić	1 sedmica	Jako ovisi o pH vrijednosti, sastojcima i temperaturi; 2 sedmice u frižideru

Polučvrsti preparati		
Okularna primjena		
Hidrofobne masti	4 sedmice	Prema preporukama Ph. Eur.; problematična proizvodnja sa suspendovanom aktivnom supstancom
Lipofilne kreme		
Konzervirane	4 sedmice	Prema preporukama Ph. Eur.; otopljena aktivna supstanca
Nekonzervirane	nema	Neprihvatljivo; samo jednodozni spremnici; otopljena aktivna supstanca
Hidrogelovi		
Konzervirani	4 sedmice	Prema preporukama Ph. Eur.; problematična proizvodnja sa suspendovanom aktivnom supstancom
Aurikularna primjena		
Hidrofobne masti		
Tuba, lončić	4 sedmice	U opravdanim slučajevima 6 mjeseci
Lipofilne kreme		
Konzervirane; tuba, lončić	4 sedmice	Prema preporukama Ph. Eur.
Hidrogelovi		
Konzervirani; tuba, lončić	4 sedmice	Prema preporukama Ph. Eur.
Tečni preparati (emulzije, suspenzije, otopine)		
Dermalna, nazalna, rektalna, vaginalna i primjena u usnoj šupljini		
Konzervirani	6 mjeseci	-
Nekonzervirani	1 sedmica	Jako ovisi o pH vrijednosti, sastojcima i temperaturi čuvanja
Bezvodni	6 mjeseci	-
Oralna primjena		
Konzervirani	6 mjeseci	-
Nekonzervirani	2 sedmice	Skladištenje samo u frižideru
Bezvodni	6 mjeseci	-
Okularna primjena		
Vodeni, konzervirani	4 sedmice	Prema preporukama Ph. Eur.
Vodeni, nekonzervirani	Nema	Neprihvatljivo; samo jednodozni spremnici
Uljani (kapi za oko)	4 sedmice	Izuzetak kod nekonzerviranih aktivnih supstanci imunosupresivnog djelovanja: 1 sedmica
Primjena na ranama		
Konzervirani	24 sata	Aseptična priprema i čuvanje u frižideru
Otopine za inhaliranje		
Konzervirane	4 sedmice	Na bazi kapi za oči
Nekonzervirane	24 sata	Po mogućnosti u sterilnim jednodoznim spremnicima
Bezvodne	1 godina	Kapi za inhaliranje, posebno eterična ulja
Nazalna primjena		
Emulzije za nos		
Konzervirane; tuba, lončić sa aplikatorom	3 mjeseca	-
Konzervirane; boca sa kapaljkom	2 sedmice	-
Nekonzervirane; tuba, lončić sa aplikatorom	1 sedmica	-
Nekonzervirane; boca sa kapaljkom	24 sata	-

Sprej za nos (sa raspršivačem pod pritiskom)		
Konzervirani	6 mjeseci	Relativno nizak rizik od kontaminacije prilikom upotrebe
Nekonzervirani	1 sedmica	
Kapi za nos		
Konzervirane	2 sedmice	Visok rizik od kontaminacije prilikom upotrebe; najviše 10 mL po spremniku
Nekonzervirane	24 sata	Po mogućnosti u sterilnim jednodoznim spremnicima
Aurikularna primjena		
Vodeni, konzervirani	4 sedmice	Prema preporukama Ph. Eur.
Vodeni, nekonzervirani	24 sata	Po mogućnosti u sterilnim jednodoznim spremnicima
Bezvodni	4 sedmice	Prema preporukama Ph. Eur.; u opravdanim slučajevima 6 mjeseci
Sklerozirajuće otopine za submukozalnu primjenu		
Uljane, alkoholne ili vodene sa jakim antimikrobnim djelovanjem	3 dana	Kod aseptične pripreme
Vodeni preparati iz čajnih mješavina (dekolti, infuzi)		
Nekonzervirani	24 sata	Na sobnoj temperaturi
	3 dana	U frižideru

* Uz dopuštenje: © Deutscher Arzneimittel-Codex® / Neues Rezeptur-Formularium®, The 12th edition 2022 of „Tabellen für die Rezeptur“, AVOXA – Mediengruppe Deutscher Apotheker GmbH, Eschborn, Germany

Američka farmakopeja USP NF u poglavlju 795 *Pharmaceutical Compounding Nonsterile Preparations* dala je sljedeće smjernice za:

1.0. Određivanje roka upotrebe (*beyond-use date*)

1.1. Terminologija

Signatura nesterilnih farmaceutskih preparata (NFP) mora uključivati datum nakon kojih se preparat ne može koristiti i mora se odbaciti (tj. rok upotrebe). Rok upotrebe, nakon kojeg se preparat ne smije koristiti se izražava/navodi u danima ili mjesecima.

1.2. Parametri koje treba uzeti u obzir kod određivanja roka upotrebe

Rokove upotrebe za NFP bi trebalo odrediti standardnim pristupom kako bi se osiguralo da preparat zadrži potrebne karakteristike te tako smanjio rizik od kontaminacije ili razgradnje.

Prilikom određivanja rokova upotrebe, magistri farmacije moraju uzeti u obzir parametre koji mogu uticati na stabilnost, uključujući, ali ne ograničavajući se na:

- Hemijske i fizičke karakteristike stabilnosti farmaceutskih aktivnih supstanci i svih pomoćnih supstanci u preparatu (npr. ako je poznato da se aktivne farmaceutske supstance i pomoćne supstance u preparatu brzo razgrađuju tokom vremena i/ili pod određenim uslovima skladištenja, smanjuju učinkovitost preparata ili proizvode po zdravlje štetne degradacione produkte)
- Kompatibilnost primarne ambalaže sa preparatom (npr. curenje/gubitak preparata iz ambalaže, interakcije, adsorpcija i uslovi skladištenja).
- Razgradnja primarne ambalaže koja može dovesti do smanjenja ispravnosti preparata
- Pogodnost za razvoj mikroorganizama u preparatu
- Značajna odstupanja od bitnih koraka i postupaka pripreme; promjene bitnih koraka pripreme mogu imati utjecaj na stabilnost formulacije.

1.3. Određivanje roka trajanja nesterilnih farmaceutskih preparata

Rokovi trajanja označavaju dane od momenta pripreme preparata, nakon kojih se ne smije koristiti. Rokovi trajanja u Tabeli 2. temelje se na sposobnosti NFP-a da zadrži hemijsku i fizičku stabilnost i da ostanu mikrobiološki ispravni. Ovi rokovi trajanja predstavljaju ograničenje za nesterilne farmaceutske preparate koji su pakirani u čvrstu ambalažu neprozirnu na svjetlost, osim ako ne ispunjavaju uslove pod 1.4 za NFP koji zahtijevaju kraći rok trajanja ili uslove pod 1.5. za NFP koji mogu imati produženi rok upotrebe.

Vodeni i nevodeni farmaceutski oblici u Tabeli 2. definirani su na temelju aktivnosti vode (a_v) najslabijeg preparata opisanog u Tabeli 1. ili na osnovu poglavlja „Primjena određivanja aktivnosti vode na nesterilne farmaceutske proizvode (USP 1112). Općenito, korištenje parametra aktivnosti vode pomaže u procjeni osjetljivosti NFP-a na kontaminaciju mikroorganizmima i potencijala za razgradnju aktivnih supstanci uslijed hidrolize. Aktivnost vode razlikuje se od sadržaja vode i može se smatrati dostupnom vodom za rast mikroorganizama i reakciju hidrolize. Farmaceutski oblici koji ne sadrže vodu neće biti podložni razvoju mikroorganizama zbog svoje niske aktivnosti vode. Smanjena aktivnost vode uveliko pomaže u prevenciji proliferacije mikroorganizama u konvencionalno proizvedenim proizvodima i očekuje se da će donijeti istu korist kod NFP-a.

Gotovi lijekovi u USP NF 2022, monografija 1112 i magistralni preparati u Tabeli 1. u nastavku ne uključuju sve preparate. Međutim, oni pružaju smjernice o vrijednosti a_v pojedinih nesterilnih farmaceutskih preparata i mogu pomoći osoblju u određivanju roka trajanja u odnosu na farmaceutski oblik koristeći Tabelu 2. NFP ne treba testirati na aktivnost vode osim ako nije potrebno utvrditi da li je preparat vodeni ili nevodeni. Prilikom pripreme NFP-a, korištene sirovine i oprema doprinose mikrobiološkoj ispravnosti konačnog preparata. Nesterilni farmaceutski preparati sa $a_v \geq 0,6$ trebali bi sadržavati prikladne konzervanse za zaštitu od proliferacije bakterija, kvasnica i plijesni ako se nenamjerno unesu tokom ili nakon pripreme. Odabir konzervansa potrebno je pažljivo razmotriti kako bi se osigurala mikrobiološka učinkovitost i stabilnost. Ukoliko su konzervansi klinički kontraindicirani u NFP-u, potrebno ih je čuvati u frižideru ako uslovi skladištenja neće promijeniti fizikalna ili hemijska svojstva NFP-a (npr. taloženje).

Tabela 1. Aktivnost vode (a_v) najčešćih NFP-a^a

Nevodeni farmaceutski oblici: $a_v < 0,60$			Vodeni farmaceutski oblici: $a_v \geq 0,60$		
Farmaceutski oblik	Opis	a_v	Farmaceutski oblik	Opis	a_v
Meke želatinske kapsule (punjene uljem)	Inkapsulirano maslinovo ulje	0,468	Krema	Krema vehikulum (ulje u vodi emulzija, bez vazelina)	0,968
Tvrde želatinske kapsule (punjene praškom)	Inkapsulirana praškasta baza	0,435	Krema	Emolijentna krema (vazelin i mineralno ulje)	0,984
Gel (na bazi glikola)	Propilenglikol, etoksigidlikol, hidroksipropil celulozni gel	0,056	Krema	Krema (ulje u vodenoj emulziji sa prirodnim uljima)	0,989
Lizalo	Lizalo	0,460	Pjena	Pjeneća otopina tenzida	0,983
Mast	Hidrofilni vazelin	0,396	Gel (hidrofilni na vodenoj bazi)	Bezalkoholni vodeni gel	0,990
Mast	Polietilen i mineralno-uljna gel baza	0,459	Gel (hidrofilni na vodenoj bazi)	Gel na bazi hidroksipropil metilceluloze (HMPC)	1,000
Oralna otopina (glikolna)	20% polietilenglikol i 80% propilenglikol	0,009	Losion	Losion (ulje u vodi emulzija)	0,986
Oralna otopina (uljana)	Ulja sa trigliceridima lanca srednje dužine	0,338	Sprej za nos	Sprej za nos	0,991

Nevodeni farmaceutski oblici: $a_v < 0,60$			Vodeni farmaceutski oblici: $a_v \geq 0,60$		
Farmaceutski oblik	Opis	a_v	Farmaceutski oblik	Opis	a_v
Oralne suspenzije (masno ulje)	Masno ulje sa zgušnjivačem	0,403	Oralna otopina (na bazi vode)	Vehikulum – sirup sa niskim sadržajem saharoze	0,906
Prašak za inhalaciju	Inkapsulirani prašak za inhalaciju	0,402	Oralna otopina (na bazi vode)	90% voda i 10% glicerol	0,958
Balzam	Balzam za usne	0,181	Oralna suspenzija (na bazi vode)	Vehikulum – oralna suspenzija	0,992
Supozitorije	U podlozi polietilenglikola	0,374	Preparati za ispiranje	Polimerni gel sa 30% vode	0,960
Supozitorije	U lipofilnoj podlozi	0,385	Šampon	Šampon	0,976
Tablete (komprimirane)	Komprimirane tablete	0,465	Obični sirup	Obični sirup	0,831
Tablete (triturat)	Triturat izrađen od tableta (laktoza i/ili saharoza)	0,427	-	-	-
Lozenge (želatina)	Želatinske lozenge sa maks. 3% hidrosolubilnim korigensom okusa	0,332	-	-	-
Lozenge (na bazi glikola)	Poliglikolne lozenge sa maks. 3% hidrosolubilnim korigensom okusa	0,571	-	-	-

^a Izmjerene vrijednosti aktivnosti vode u Tabeli 1. za različite farmaceutske oblike smatraju se reprezentativnim primjerima. Pobrojani opisi predstavljaju osobine ispitivanih formulacija i ponuđene su kao pomoć osoblju u određivanju da li je njihov NFP vodeni ili nevodeni.

Tabela 2. Rok upotrebe prema tipu preparata kada ne postoje odgovarajuće farmakopejske monografije ili specifične informacije o stabilnosti NFP-a

Tip preparata	Rok upotrebe (u danima)	Temperatura skladištenja
Vodne formulacije ($a_v \geq 0,6$)		
Vodne formulacije bez konzervansa ^a	14	frižider
Vodne formulacije sa konzervansom ^a	35	Kontrolirana sobna temperatura ili frižider
Nevodene formulacije ($a_v \leq 0,60$)		
Oralne tečnosti (nevodene) ^b	90	Kontrolirana sobna temperatura ili frižider
Ostale nevodene formulacije ^c	180	Kontrolirana sobna temperatura ili frižider

^a Vodeni preparat je onaj koji ima $a_v \geq 0,6$ (npr. emulzije, gelovi, kreme, otopine, sprejevi ili suspenzije)

^b Nevodena oralna tečnost je ona koja ima $a_v < 0,6$

^c Kapsule, tablete, granule, praškovi, nevodeni za topikalnu primjenu, supozitorije i lozenge

1.4. Nesterilni farmaceutski preparati koji zahtijevaju kraći rok upotrebe

Rokovi upotrebe dati u Tabeli 2. odnose se na nesterilne farmaceutske preparate kada ne postoje specifične informacije o stabilnosti. To ne ograničava odgovornu osobu da, ukoliko postoje podaci o stabilnosti, odredi kraći rok upotrebe.

Kraći rok upotrebe mora se odrediti u sljedećim okolnostima:

- Ako komponente u NFP-u imaju datum isteka koji je kraći od roka upotrebe koji bi se mogao dodijeliti na osnovu Tabele 2, tada rok upotrebe NFP-a ne smije biti duži od datuma isteka komponente sa najkra-

ćim datumom isteka.

- Ako NFP uključuje komponente drugih složenih preparata, tada rok upotrebe finalnog NFP-a ne smije preći najkraći preostali rok upotrebe bilo kojeg od tih složenih preparata
- Ako je poznato da preparat zahtijeva kraći rok upotrebe.

1.5. Produženje roka trajanja za NFP

NFP s monografijom u farmakopeji:

Kada je preparat oficinalan po USP-NF-u, rok upotrebe ne smije biti duži od onog navedenog u datoj monografiji.

NFP sa podacima o stabilnosti:

Rokovi upotrebe navedeni u Tabeli 2. za vodene i nevodene farmaceutske oblike mogu se produžiti do najviše 180 dana ako postoji studija stabilnosti (objavljena ili neobjavljena), korištenjem analitičke metode indikativne za stabilnost aktivne supstance, NFP i vrstu ambalaže koja će se koristiti.

Ako se rok upotrebe NFP-a produži izvan roka trajanja datog u Tabeli 2, vodeni NFP se mora testirati na mikrobiološku ispravnost. Odgovorna osoba se može osloniti na ispitivanje mikrobiološke ispravnosti koja se provodi (ili ugovoreno) jednom za svaku formulaciju za određenu ambalažu u koju će biti zapakirana. Alternativno, odgovorna(e) osoba(e) može se osloniti na rezultate testiranja mikrobiološke ispravnosti koje je dostavila ustanova registrovana od strane FDA ili koji su objavljeni u recenziranoj literaturi sve dok su formulacija NFP-a (uključujući bilo koje konzervanse) i primarni pakovni materijal po sastavu isti kao i oni ispitani. Ispitivanje mikrobiološke ispravnosti može se provesti pri niskoj koncentraciji i visokoj koncentraciji aktivne supstance u formulaciji kako bi se utvrdila učinkovitost konzervansa u različitim jačinama iste formulacije. Koncentracija svih ostalih sastojaka (uključujući konzervanse) mora biti unutar raspona navedenih u ICH smjernicama.

ČAJNE MJEŠAVINE

Species

Definicija

Čajne mješavine se isključivo sastoje od jedne ili više biljnih droga namijenjenih za oralne vodene iscrpine u obliku dekokta, infuza ili macerata. Pripravci se spravljaju neposredno prije upotrebe.

Biljni čajevi se obično izdaju u rinfuzi ili kesicama za pojedinačnu dozu.

Biljne droge prisutne u čajnim mješavinama moraju ispunjavati kriterije zadate u odgovarajućim monografijama u Evropskoj farmakopeji za datu drogu ili u slučaju da ne postoje, moraju ispunjavati kriterije iz opšte monografije za biljne droge (1433).

Identifikacija

Identifikacija biljnih droga prisutnih u čajnim mješavinama provjerava se odgovarajućim metodama kao što su botaničko ispitivanje i/ili ispitivanjem hromatografskog profila. Prilikom makroskopskog i mikroskopskog ispitivanja čajne mješavine potrebno je za svaki pojedini sastojak čajne mješavine (drogu) ispitati karakteristične elemente građe.

Napomena

Ostali zahtjevi za kvalitetu čajne mješavine nalaze se u općoj monografiji „Biljne droge za čajne mješavine“ (1435).

Priprema

Vodeni ekstrakti droga (*Ex-tempore* pripravci)

1. *Decocta* (Dekokti)

Dekokt je oblik vodenog ekstrakta (Österreichisches Arzneibuch, ÖAB 8.0/2249) dobijen produženim zagrijavanjem droge sa vodom.

Priprema dekokta

Prije pripreme samog dekokta drogu je potrebno temeljito navlažiti vodom uz upotrebu tučka u avanu i ostaviti da odstoji 5 minuta. Nakon toga se prethodno tretirana droga prelije potrebnom ili propisanom količinom kipuće vode i zagrijava u prikladnoj pokrivenoj posudi 30 minuta uz stalno miješanje. Dekokt je potrebno procijediti kroz odgovarajući filtracioni medij, prognječiti i dopuniti vodom do propisane težine.

Ukoliko je izrada propisana od droga koje sadrže sluzi (mucilago) sa izuzetkom *Cetraria islandica* L. (islandski lišaj) i *Chondrus crispus* (irska mahovina), preparat je potrebno pripremiti u formi macerata.

Prilikom pripreme dekokta potrebno je slijediti propis odgovarajućeg stepena usitnjenosti droge:

Listovi, cvjetovi, herba	broj sita 11200
Korijenje, rizomi, kore, islandski lišaj, irska mahovina	broj sita 5600
Plodovi, sjemena	zgnječeni
Uvae-ursi folium (list uve)	broj sita 710
Saponinske droge	broj sita 355

Ukoliko nije drugačije propisano, 10 dijelova propisano usitnjene droge miješa se sa 100 dijelova vode.

Izdavanje dekokta

Pripravak je potrebno pripremiti neposredno prije primjene i upotrijebiti u okviru 24 sata.

2. *Infusa* (Infuz)

Infuz predstavlja oblik vodenog ekstrakta (Österreichisches Arzneibuch, ÖAB 8.0/2249) dobijen kratkotrajnim zagrijavanjem droge sa vodom.

Priprema infuza

Prije pripreme samog infuza drogu je potrebno temeljito navlažiti vodom uz upotrebu tučka u avanu i ostaviti da odstoji 5 minuta. Nakon toga se prethodno tretirana droga prelije potrebnom ili propisanom količinom kipuće vode i zagrijava u prikladnoj pokrivenoj posudi 5 minuta uz stalno miješanje, a potom ostavi da odstoji 30 minuta. Infuz je potrebno procijediti kroz odgovarajući filtracioni medij, prognječiti i dopuniti vodom do propisane težine.

Ukoliko je izrada infuza propisana od droga koje sadrže sluzi (mucilago; sa izuzetkom *Lichen islandicus* (islandski lišaj) i *Caragen* (irska mahovina), preparat je potrebno pripremiti u formi macerata.

Prilikom pripreme infuza potrebno je slijediti propis odgovarajućeg stepena usitnjenosti droge:

Listovi, cvjetovi, herba	broj sita 11200
Korijenje, rizomi, kore, islandski lišaj, irska mahovina	broj sita 5600
Plodovi, sjemena	zgnječeni
Uvae-ursi folium (list uve)	broj sita 710
Saponinske droge	broj sita 355

Ukoliko nije drugačije propisano, 10 dijelova propisano usitnjene droge miješa se sa 100 dijelova vode.

Izdavanje

Pripravak je potrebno pripremiti neposredno prije primjene i upotrijebiti u okviru 24 sata.

3. *Macerata* (Macerati)

Macerat je oblik vodenog ekstrakta (Österreichisches Arzneibuch, ÖAB 8.0/2249) koji se dobije ekstrakcijom droge sa vodom na sobnoj temperaturi.

Priprema macerata

Prije pripreme samog macerata drogu je potrebno temeljito navlažiti vodom uz upotrebu tučka u avanu i ostaviti da odstoji 5 minuta. Nakon toga, prethodno tretirana droga se ekstrahuje sa potrebnom količinom vode 1 sat u pokrivenoj pogodnoj posudi uz povremeno miješanje. Dobijeni ekstrakt se procijedi kroz odgovarajući filtracioni medij, lagano progneči i dopuni vodom do propisane težine te kratko zagrije.

Ukoliko se za pripremu macerata koristi korijen bijelog sljeza (*Althaeae radix*) ili sjeme lana (*Lini semen*), onda drogu nije potrebno navlažiti vodom u avanu. Macerat od navedenih droga priprema se tako što se 5 dijelova droge prelije sa 100 dijelova vode u prikladnoj posudi i uz povremeno miješanje ekstrahira 30 minuta.

Prilikom pripreme macerata potrebno je slijediti propis odgovarajućeg stepena usitnjenosti droge:

Sjeme lana	in toto (droga u cijelosti)
Listovi, cvjetovi, herba, <i>Althaeae radix</i> (korijen bijelog sljeza)	broj sita 11200

Ukoliko nije drugačije propisano, 10 dijelova propisano usitnjene droge miješa se sa 100 dijelova vode.

Izdavanje

Pripravak je potrebno pripremiti neposredno prije primjene i upotrijebiti u okviru 24 sata.

Čuvanje

Zaštiti od svjetlosti.

1. *Species cholagogae*

a) *Species cholagogae I*

Sastav:

Taraxaci radix	35 g
Menthae piperitae folium	25 g
Zingiberis rhizoma	20 g
Chamomillae flos	20 g

b) *Species cholagogae II*

Sastav:

Menthae piperitae folium	40 g
Millefolii herba	30 g
Absinthii herba	20 g
Carvi fructus	10 g

2. *Species stomachicae antacidae*

Sastav:

Chamomillae flos	40 g
Malveae folium	30 g
Calendulae flos	20 g
Glycyrrhizae radix	10 g

3. *Species carminativae***a) *Species carminativae I*****Sastav:**

Menthae piperitae folium	25 g
Chamomillae flos	25 g
Carvi fructus	25 g
Juniperi fructus	25 g

b) *Species carminativae II***Sastav:**

Foeniculi fructus	40 g
Chamomillae flos	20 g
Melissae folium	20 g
Rosmarini folium	20 g

4. *Species amaricantes***Sastav:**

Absinthii herba	40 g
Centaurii herba	20 g
Aurantii amari pericarpium	20 g
Gentianae radix	10 g
Cinamommi cortex	10 g

5. *Species sedativae***Sastav:**

Valerianae radix	40 g
Melissae folium	30 g
Tilliae flos	20 g
Lavandullae flos	10 g

6. *Species antitussivae***a) *Species antitussivae I*****Sastav:**

Althaeae radix	55 g
Althaeae folium	20 g
Lichen islandicus	20 g
Malvae flos	5 g

b) Species antitussivae II

Sastav:

Althaeae folium	50 g
Plantago lanceolatae folium	40 g
Verbasci flos	10 g

7. Species expectorans

Sastav:

Thymi herba	40 g
Primulae radix	30 g
Anisi fructus	20 g
Verbasci flos	10 g

8. Species laxantes (samo iznad 14 godina starosti)

Species laxantes I

Sastav:

Frangulae cortex	40 g
Rhei rhizoma	30 g
Malvae folium	20 g
Anisi fructus	10 g

Species laxantes II

Sastav:

Frangulae cortex	40 g
Sennae folium	20 g
Menthae piperitae folium	20 g
Foeniculi fructus	20 g

9. Species urologicae

a) Species urologicae I

Sastav:

Uvae ursi folium	50 g
Ononidis radix	25 g
Herniariae herba	25 g

b) Species urologicae II

Sastav:

Uvae ursi folium	47 g
Betullae folium	35 g
Solidaginis herba	18 g

