

BADANIE CZYSTOŚCI ŚRODKÓW LECZNICZYCH (opracowana na podstawie Farmakopei XII)

Produkty lecznicze są jednym z elementów ochrony zdrowia. Aby spełniły swoją rolę muszą spełniać ściśle określone warunki dotyczące odpowiedniej jakości, bezpieczeństwa i skuteczności. Cel ten może być osiągnięty poprzez zapewnienie właściwej jakości substancji aktywnych, substancji pomocniczych i postaci leku. Ocena środków leczniczych obejmuje potwierdzenie tożsamości, badanie zawartości zanieczyszczeń oraz oznaczanie zawartości. Otrzymanie pozytywnej odpowiedzi w każdym z tych zakresów upoważnia nas do wydania decyzji o dopuszczeniu substancji leczniczej, pomocniczej czy postaci leku do obrotu. Preparat o prawidłowej zawartości substancji leczniczej może być zdyskwalifikowany jako środek leczniczy ze względu na przekroczone zawartości zanieczyszczeń. Pojęcie „farmakopealny” środek leczniczy nie jest tożsame z pojęciem „związek czysty” czy „związek czysty do analizy”. Dla każdego z nich są odrębne normy i w przypadku związków farmakopealnych wymagania pod względem zawartości niektórych zanieczyszczeń mogą być bardziej zaostrzone, a w przypadku zanieczyszczeń związkami obojętnymi mniej surowe.

Pojęcie „zanieczyszczenie” obejmuje każdą substancję, zawartą w substancjach leczniczych i pomocniczych, stosowanych do celów farmaceutycznych, o budowie chemicznej odbiegającej od substancji aktywnej (także w kwestii stereoizomerii). Zanieczyszczenia środków leczniczych mogą powstać na każdym etapie produkcji (w toku syntezy lub wyodrębniania z surowca) i podczas przechowywania. Część zanieczyszczeń może dotyczyć wszystkich preparatów i jest związana z koniecznością stosowania np. metalowego sprzętu, odczynników, rozpuszczalników, wody (zanieczyszczenia chlorkami, siarczanami, azotanami, żelazem, metalami ciężkimi, związkami wapnia, baru, magnezu, potasu, węglanami). Wymagania jakościowe i ilościowe co do zawartości tych zanieczyszczeń, jakie są stawiane poszczególnym substancjom różnią się. Uzależnione jest to między innymi od dawki dobowej w jakiej środek leczniczy jest podawany i czy jest to kuracja przewlekła. Przykładem może być desmopresyna (analog wazopresyny stosowany w moczówce prostej podawany w dawce dobowej 4 μg – 300 μg), dla którego Farmakopea XII nie przewiduje badania zawartości metali ciężkich, żelaza, chlorków, siarczanów. W przypadku stearynianu magnezu (substancja pomocnicza wykorzystywana jako środek poślizgowy w tabletkach i kapsułkach) Farmakopea przewiduje badanie w kierunku zanieczyszczeń między innymi chlorkami, siarczanami, kadmem, ołowiem, niklem. Bezpośrednio z substancją leczniczą związane są zanieczyszczenia indywidualnie określone – czyli zanieczyszczenia, które zostały zidentyfikowane (tzn. takie, których struktura została określona) lub niezidentyfikowane (ich budowa chemiczna nie została określona). Są indywidualnie wymienione i została dla nich określona wartość graniczna. Dla zanieczyszczeń indywidualnie nieokreślanych dopuszczalny limit zawartości zanieczyszczeń jest określony ogólnymi wymaganiami.

Badania farmakopealne przewidują określenie zanieczyszczeń zarówno zidentyfikowanych tzn. takich których struktura została określona i niezidentyfikowanych. Obecność zanieczyszczeń możemy sklasyfikować w poniższych grupach:

1. Zanieczyszczenia organiczne (substancje pokrewne) – mogą powstać w procesie produkcji jako składniki początkowe, pośrednie, uboczne, produkty rozkładu.
2. Zanieczyszczenia nieorganiczne – metale ciężkie, katalizatory, sole nieorganiczne, inne metale.
3. Pozostałości rozpuszczalników- dotyczy to zarówno rozpuszczalników organicznych jak i nieorganicznych.

Akceptowalne wartości graniczne zanieczyszczeń są uzależnione od stopnia toksyczności danego związku. Dla każdego z nich jest wyznaczony **próg identyfikacji**, czyli zawartość graniczna, powyżej której zanieczyszczenie musi być zidentyfikowane i **próg kwalifikacji**, czyli zawartość, powyżej której substancja musi być sklasyfikowana pod kątem bezpieczeństwa stosowania.

Wprowadzając nową substancję leczniczą należy przedstawić możliwe wszystkie zanieczyszczenia, a także przeprowadzić analizę każdego etapu syntezy i możliwość pojawienia się hipotetycznych związków w linii produkcyjnej.

Ustalone progi dla zanieczyszczeń podawane są w przeliczeniu na dawkę dobową przyjmowanej substancji leczniczej (Tabela 1).

Tabela 1. Limit zawartości zanieczyszczeń w przeliczeniu na dawkę przyjmowanej substancji leczniczej.

Dawka dobową substancji leczniczej	Wartość graniczna pominięcia *	Próg identyfikacji zanieczyszczeń	Próg kwalifikacji zanieczyszczeń
≤ 2 g	0,05%	0,1% lub 1,0 mg/dobę **	0,15% lub 1,0 mg/dobę **
> 2 g	0,03%	0,05%	0,05%

* zawartość zanieczyszczenia substancji badanej nie przekracza podanej wartości;

** należy wziąć pod uwagę niższy wariant.

Jeżeli zawartość zanieczyszczenia jest większa niż próg identyfikacji i znana jest jego struktura, należy wziąć pod uwagę ryzyko działań toksycznych, związane z obecnością tego zanieczyszczenia. Jeżeli ryzyko działań toksycznych nie występuje, należy sprawdzić czy zawartość zanieczyszczenia przekracza próg kwalifikacji. Jeżeli zawartość zanieczyszczenia przekracza próg kwalifikacji, to należy zredukować jego ilość, jeżeli nie przekracza, to nie podejmuje się dalszych działań. Każda monografia szczegółowa może zawierać inne wartości graniczne, różne od założeń ogólnych i specyficzne dla danej substancji leczniczej.

Przedstawiono wybrane próby i metody badania zanieczyszczeń substancji leczniczych i pomocniczych.

Ocena wyglądu

Celem próby jest stwierdzenie obecności zanieczyszczeń bez ich identyfikacji. Badaniu podlegają roztwory przygotowane z substancji badanej o ściśle określonym stężeniu podanym w monografii szczegółowej i w odpowiednim rozpuszczalniku. Ocenia się przezroczystość, stopień zmętnienia i zabarwienie wynikające z zanieczyszczeń związkami barwnymi. Badanie można przeprowadzić zarówno metodą wizualną jak i instrumentalną – turbidymetria (badanie światła transmitowanego) lub nefelometria (badanie światła rozproszonego). Do przeprowadzenia eksperymentu niezbędne są roztwory porównawcze. W przypadku analizy przezroczystości i stopnia zmętnienia należy przygotować wzorzec opalescencji i wzorce zmętnienia. Obserwację prowadzi się 5 min po przygotowaniu roztworów obserwując zawartość probówek od góry na czarnym tle.

Roztwór badany uważa się za przezroczysty jeżeli porównywany z wodą lub innym rozpuszczalnikiem nie wykazuje różnic.

Przygotowanie podstawowej zawiesiny opalizującej - zmieszać 25 mL roztworu heksametylenotetraminy (100 g/L) i 25 mL roztworu siarczanu hydrazyny (10 g/L).

Wzorzec do opalizacji – pobrać 15 mL podstawowej zawiesiny opalizacji i uzupełnić wodą do 1000,0 mL. Pobrać odpowiednio 5,0, 10,0, 30,0, 50,0 mL roztworu i uzupełnić wodą do 100,0 mL. Roztwory te stanowią 4 stopnie zawiesin porównawczych.

Stopień zanieczyszczenia związkami barwnymi lub substancjami reagującymi z określonymi odczynnikami, w wyniku czego powstają związki barwne, jest określany wizualnie z wykorzystaniem skali wzorców barwnych.

Roztwór uważamy za bezbarwny, jeżeli w porównaniu z wodą lub innym rozpuszczalnikiem nie wykazuje większej intensywności zabarwienia.

Do przygotowania skali wzorców barwnych należy wykonać odpowiednie roztwory podstawowe.

Roztwór żółty – roztwór sześciowodnego FeCl_3 (45 g/L) przygotowany w mieszaninie 25 mL HCl (425 g/L) i 975 mL wody.

Roztwór czerwony – roztwór sześciowodnego CoCl_2 (59,5 g/L) przygotowany w mieszaninie 25 mL HCl (425 g/L) i 975 mL wody.

Roztwór niebieski – roztwór pięciowodny CuSO_4 (62,4 g/L) przygotowany w mieszaninie 25 mL HCl (425 g/L) i 975 mL wody.

Z roztworów podstawowych przygotowuje się 5 roztworów wzorcowych.

- „B” – brunatny (odmierzyć po 3,0 mL roztworu żółtego i czerwonego, 2,4 mL roztworu niebieskiego uzupełnione kwasem solnym (10 g/L) do 10,0 mL),

- „BŻ” – brunatnożółty (odmierzyć 2,4 mL roztworu żółtego, 1,0 mL czerwonego i 0,4 mL niebieskiego uzupełnione kwasem solnym (10 g/L) do 10,0 mL).
- „Ż” – żółty (odmierzyć 2,4 mL roztworu żółtego i 0,6 mL roztworu czerwonego uzupełnione kwasem solnym (10 g/L) do 10,0 mL),
- „ŻŻ” – zielonawożółty (odmierzyć 9,6 mL roztworu żółtego, 0,2 mL roztworu czerwonego i 0,2 mL roztworu niebieskiego),
- „C” – czerwony (odmierzyć 1,0 mL roztworu żółtego, 2,0 mL roztworu czerwonego i uzupełnić kwasem solnym (10 g/L) do 10,0 mL).

Z każdego z roztworów wzorcowych przygotowuje się skalę wzorców: z roztworu brunatnego 9 roztworów, a z brunatnożółtego, żółtego, zielonawożółtego i czerwonego po 7 roztworów co stanowi 37 stopniową skalę barw. W monografii szczegółowej substancji znajduje się ściśle określony numer roztworu porównawczego służący do weryfikacji zabarwienia przygotowanego roztworu np. Ż₆ – co oznacza 6 roztwór odniesienia w skali wzorca żółtego, gdzie Ż₁ oznacza wzorzec najbardziej intensywnej a Ż₇ najmniej intensywnej.

Oznaczenie nadmiernej kwasowości lub zasadowości

Badanie na zanieczyszczenia wolnymi kwasami lub zasadami prowadzi się używając roztworu substancji badanej o określonym stężeniu, który w zależności od potrzeby jest miareczkowany mianowanym roztworem wodorotlenku sodu lub kwasem solnym o stężeniu 0,01 mol/L lub 0,1 mol/L. W monografii podano wskaźnik jaki należy zastosować oraz maksymalną, dopuszczalną objętość zużytego titranta.

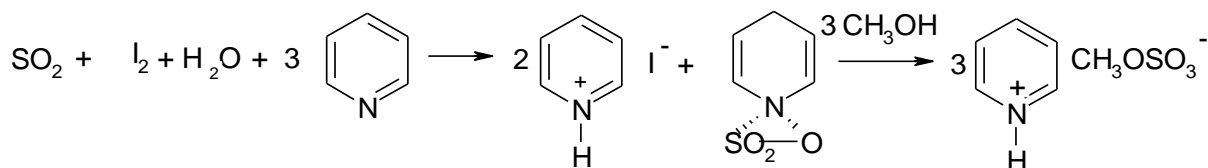
Oznaczenie straty masy po suszeniu

Badanie polega na określeniu straty masy substancji po suszeniu w określonych warunkach. Próba dotyczy zanieczyszczeń substancji nielotnych substancjami lotnymi (np. woda higroskopijna i krystalizacyjna, pozostałość rozpuszczalników klasy III). Należy doprowadzić naczynko do stałej masy w warunkach, w jakich będzie prowadzony eksperyment (opisanych w monografii substancji badanej). Szczegóły dotyczą temperatury (pokojowa, podwyższona), ciśnienia (atmosferyczne, próżnia, wysoka próżnia), konieczność zastosowania środka suszącego (pentatlenek difosforu). Wybór metody jest uzależniony od stabilności substancji badanej. Jeżeli rozkłada się ona w podwyższonej temperaturze należy zastosować suszenie w temperaturze pokojowej nad środkiem suszącym.

Oznaczenie zawartości wody

Jeżeli środek leczniczy traci wodę krystalizacyjną w pobliżu temperatury rozkładu, możemy oznaczyć ją w skali półmikro. Wykorzystuje się reakcję Fischera, w której woda reaguje z dwutlenkiem siarki i jodem w środowisku zasadowym i bezwodnym np. w metanolu lub mieszaninie metanolu i pirydyny. W powyższych warunkach jod utlenia dwutlenek siarki do

trójtlenku siarki a sam ulega redukcji do jodowodoru. Punkt końcowy wyznaczony jest elektrometrycznie wobec jednakowych elektrod platynowych.



Taka sama reakcja jest wykorzystana do oznaczania wody w skali mikro. Różnica polega jedynie na źródle z jakiego otrzymywany jest jod do reakcji. W skali mikro jod powstaje na drodze elektrochemicznej poprzez utlenienie jonów jodkowych na anodzie. Wytworzony jod natychmiast wchodzi w reakcję z dwutlenkiem siarki i wodą – miareczkowanie kulometryczne (metoda, w której punkt końcowy ustala się potencjometrycznie lub konduktometrycznie i odczynnik nie musi być dodawany z biurety, lecz wytwarzany jest elektrolitycznie. W ten sposób nie ma potrzeby stosowania roztworów mianowanych i jako odczynniki miareczkujące można użyć substancji, których roztwory są nietrwałe i dlatego nie znajdują zastosowania w tradycyjnej metodzie miareczkowej. Ilość zużytego odczynnika określa się biorąc pod uwagę czas i natężenie prądu potrzebnego do osiągnięcia stanu równowagi).

Oznaczenie popiołu całkowitego

Substancje organiczne nie zawierające zanieczyszczeń związkami nieorganicznymi lub organicznymi, występującymi w postaci soli z jonami metalu, ulegają spalaniu bez pozostawiania popiołu. Węgiel przechodzi w dwutlenek węgla, wodór w parę wodną, azot w amoniak, siarka w tlenek siarki(IV), a chlorowce w lotne kwasy chlorowcowodorowe. Jeżeli substancja zawiera zanieczyszczenia jonami metalu to pozostaną one po wyprażeniu w postaci osadów tlenków, węglanów, siarczanów czy fosforanów.

Badanie polega na wyprażeniu w tyglu platynowym lub krzemionkowym (prażonym przez 30 min) 1,00 g substancji uprzednio suszonej godzinę w temp. 100-105°C i następnie doprowadzonej do stałej masy w piecu w temp. ok. 600°C. Podczas badania nie można dopuścić do pojawienia się płomienia. Wyprażanie prowadzi się do momentu zaniku czarnych cząstek. Jeżeli substancja trudno się wypraża, to należy przemyć pozostałość gorącą wodą i przesączyć przez sączek z bibuły bezpopiołowej i przeprowadzić wyprażanie pozostałego na sączku popiołu wraz z sączkiem. Połączyć przesącze z popiołem, odparować ostrożnie i całość wyprażyć do stałej masy (różnica między ważeniami nie przekracza 0,5 mg).

Oznaczanie popiołu siarczanowego

Badanie dotyczy substancji, które pozostają w tyglu po wyprażeniu związku organicznego ze stężonym kwasem siarkowym. Podaną w monografii ilość substancji należy zwilżyć ok. 1 mL stężonego kwasu siarkowego i łagodnie ogrzać (tak aby nie pojawił się płomień), w celu całkowitego zwęglenia zawartości tygla. Po ponownym dodaniu 1 mL stężonego kwasu siarkowego i ogrzewaniu do zaniku białych dymów tygiel należy doprowadzić do stałej masy w piecu w temp. ok. 600°C (różnica między ważeniami nie przekracza 0,5 mg).

Oznaczenie zanieczyszczeń w gazach

W zależności od rodzaju zanieczyszczenia do oznaczeń stosowane są różne techniki analityczne. Badania dotyczą określenia zawartości dwutlenku węgla (analizator podczerwieni), tlenku węgla (metoda miareczkowa lub analizator podczerwieni), tlenku azotu i dwutlenku azotu (analizator chemiluminescencji), tlenu (analizator paramagnetyczny), wody (higrometr elektrolityczny).

Oznaczenie zanieczyszczeń substancjami łatwo zwęglającymi się

Badanie jest przewidziane dla substancji leczniczych i pomocniczych, które nie ulegają zwęglaniu pod wpływem stężonego kwasu siarkowego. Poddaje się 1,0 g związku działaniu 10 mL stężonego kwasu siarkowego i ogrzewa przez godzinę w łaźni wodnej w temp. ok. 90°C. Próbę przeprowadza się np. dla kwasu cytrynowego. W przypadku gdy jest on zanieczyszczony kwasem winowym, łatwo ulegającym zwęglaniu w podanych warunkach, zabarwienie roztworu końcowego będzie znacznie intensywniejsze niż czystego kwasu cytrynowego.

Oznaczenie pozostałości rozpuszczalników

Pozostałości wszystkich rozpuszczalników użytych w procesie produkcji, w związku z brakiem korzyści terapeutycznych, powinny być usunięte z substancji aktywnej, pomocniczej i postaci leku. Wybrany rozpuszczalnik może stanowić krytyczny punkt syntezy np. zwiększający wydajność procesu lub niezbędny do uzyskania określonej postaci krystalicznej. Dopuszczone ilości pozostałości rozpuszczalników są ustalone na takim poziomie aby zapewnić bezpieczeństwo stosowania leku. Niektóre z nich, które mają udowodnione działanie toksyczne nie powinny być w ogóle stosowane w procesie produkcji (klasa I).

Dokonano podziału rozpuszczalników na klasy w zależności od ich toksyczności.

Klasa I – związki charakteryzujące się niedopuszczalną toksycznością. Należy w miarę możliwości nie stosować ich w procesie produkcji, a jeżeli jest to niemożliwe należy wyeliminować je z substancji, i produktów leczniczych. Związki te charakteryzuje potwierdzone działanie kancerogenne lub spodziewane działanie kancerogenne, toksyczność w stosunku do środowiska (np. benzen, czterochlorek węgla).

Klasa II – związki mające działanie toksyczne i ich zawartość musi być ograniczona ze względu na działania niepożądane. Do tej klasy należą związki, które nie mają działania genotoksycznego, ale mogą powodować nieodwracalne zmiany neurotoksyczne i teratogenne (np. acetonitryl, chloroform, dichlorometan, heksan, metanol, pirydyna, tetrahydrofuran, toluen, ksylen).

Klasa III – związki o małej toksyczności. Dozwolona dzienna dawka nie może przekraczać 50 mg. Z uwagi na fakt, że dla większości związków należących do tej klasy są jedynie przeprowadzone badania toksyczności ostrej i krótkoterminowe, brak jest badań dotyczących

toksyczności przewlekłej. Dopuszczalna dzienna dawka również jest ograniczona (np. kwas octowy, aceton, butanol, etanol, octan etylu, eter etylowy, propanol).

Typową metodą używaną do oceny pozostałości rozpuszczalników jest chromatografia gazowa. Jeżeli możemy się spodziewać rozpuszczalników tylko z klasy III wystarczy zastosować jedynie metodę niespecyficzną (strata masy po suszeniu). Kryterium akceptacji w tym przypadku wynosi 0,5%. Jest również szereg związków, które na skutek braku odpowiednich danych toksykologicznych nie zostały przyporządkowane do określonej klasy, ale również podlegają ocenie pod kątem zawartości w preparatach farmaceutycznych (np. izooktan, eter naftowy, kwas trichlorooctowy).

Ocena zanieczyszczeń pierwiastkami

Zanieczyszczenia produktów leczniczych pierwiastkami mogą pochodzić z substancji celowo dodanych w procesie produkcji jako katalizatory lub są składnikiem oprzyrządowania użytego do syntezy, lub są zanieczyszczeniem substancji leczniczej i w konsekwencji możemy je oznaczyć w postaci leku (ICH Q3D). Dozwolona dzienna dawka jest ustalona na podstawie zaakceptowanej granicy bezpieczeństwa potencjalnie toksycznych pierwiastków. Pierwiastki podzielono na kategorie w zależności od ryzyka i ciężkości działań toksycznych. Niskie ryzyko działań toksycznych wykazują Fe, B, Al, Zn, K, Ca, Na, Mn, Mg.

W określeniu dopuszczalnego dziennego pobrania należy wziąć pod uwagę drogę podania. Bierze się pod uwagę drogę doustną, parenteralną i w postaci inhalacji. Inne drogi podania nie są rozpatrywane. W przypadku inhalacji należy również wziąć pod uwagę możliwość działania drażniącego miejscowo. Poziom przewyższający dopuszczalne dzienne podanie może być warunkowo zaakceptowany np. krótki czas podawania (mniej niż 30 dni), rzadkie schorzenia. Podział pierwiastków na klasy toksyczności:

1. Klasa I - As, Cd, Hg, Pb - znaczna toksyczność we wszystkich drogach podania.

2. Klasa II – nasilenie toksyczności w zależności od drogi podania.

- Klasa IIA – V, Mo, Se, Co – możemy mieć do czynienia w przypadku zanieczyszczeń przypadkowych.

- Klasa IIB – Au, Tl, Pd, Pt, Ir, Os, Rh, Ag, Ru - możemy mieć z nimi do czynienia w przypadku celowego dodania w procesie syntezy.

3. Klasa III – Sb, Ba, Li, Cr, Cu, Sn, Ni – stosunkowo niska toksyczność w przypadku doustnej drogi podania, ale wymaga większej uwagi (niższa dopuszczalna norma) w przypadku inhalacji lub podania parenteralnego

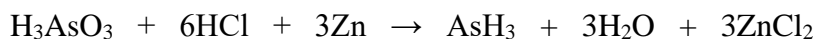
4. Klasa IV – Al., B, Fe, Zn, K, Ca, Na, Mn, Mg, W – dopuszczalne dzienne podanie nie jest określone ze względu na bardzo małą toksyczność.

Ocena zanieczyszczeń arsenem

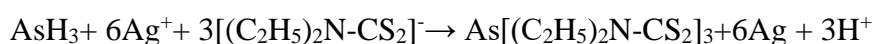
Związki arsenu należą do trucizn kumulujących się w organizmie (głównie w skórze, włosach, paznokciach i nabłonku przewodu pokarmowego), blokują grupy sulfhydrylowe białek i enzymów. Arsen i jego sole mogą być przyczyną powstawania nowotworów wielu narządów. Stąd też istotne jest przeprowadzenie badań na zawartość arsenu, zwłaszcza w przypadku substancji stosowanych przewlekłe lub w dużych dawkach. Zanieczyszczenia arsenem mogą powstać w wyniku użycia do syntez kwasu siarkowego otrzymanego metodą komorową. Metoda oznaczania zanieczyszczeń arsenem wymaga specjalnego zestawu do badania. Składa się on z kolby stożkowej połączonej w określony sposób z rurkami szklanymi. Całość stanowi szczelny układ. Końcówka zanurzona jest w probówce z roztworem dietyloditiokarbaminianu srebra. W kolbie należy rozpuścić podaną ilość substancji badanej w wodzie i dodać kwas solny (425 g/L), roztwór chlorku cyny(II), roztwór jodku potasu i aktywowanego cynku (pozbawionego zanieczyszczeń arsenem). Po połączeniu zestawu ogrzewać równomiernie w łaźni. Jednocześnie należy wykonać próbę porównawczą z zastosowaniem wzorcowego roztworu arsenu o stężeniu 1 µg/mL. Substancja spełnia wymagania badania jeżeli zawartość w odbieralniku po 2 h nie będzie miała intensywniejszego zabarwienia niż zabarwienie roztworu w odbieralniku, w zestawie z roztworem wzorcowym arsenu. W pierwszym etapie arsen na piątym stopniu utlenienia ulega redukcji pod wpływem jodku potasu do trzeciego stopnia utlenienia.



W następnym etapie następuje redukcja arsenu na trzecim stopnia utlenienia do lotnego arsenowodoru.

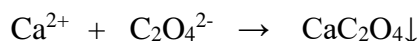


W wyniku reakcji arsenowodoru z dietyloditiokarbaminianem srebra powstaje zabarwienie.



Oznaczenie zanieczyszczeń wapniem

Próba polega na reakcji jonów wapnia z jonami szczawianowymi. Ponieważ zawartość zanieczyszczeń jonami wapnia jest niewielka obserwuje się jedynie zmętnienie, a nie wytrąca się osad.



W celu przeprowadzenia badania należy przygotować dwa roztwory wzorcowe jonów wapnia.

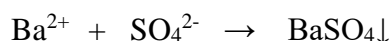
Roztwór 1 (100 µg/mL Ca²⁺) – bezpośrednio przed użyciem rozcieńczyć 10-krotnie etanolem 96% roztwór, w skład którego wchodzi 2,50 g węglanu wapnia, 12 ml kwasu octowego (310 g/L) dopełnionego wodą do 1000,0 mL.

Roztwór 2 (10 µg/mL Ca²⁺) – Bezpośrednio przed użyciem rozcieńczyć 100-krotnie roztwór w skład którego wchodzi 0,624 g węglanu wapnia, 3 mL kwasu octowego (310 g/L) dopełnionego wodą do 250,0 mL.

Wykonanie oznaczenia: do 0,2 mL roztworu „1” dodać 1 mL roztworu szczawianu amonowego (40 g/L). Pozostawić 1 min, następnie dodać 1 mL kwasu octowego (115 g/L) i 15 mL roztworu substancji badanej o stężeniu podanym w monografii. Powstałą po 15 min opalizację porównać z mieszaniną wzorcową przygotowaną z 10 mL roztworu „2”, 1 mL kwasu octowego (115 g/L) i 5 mL wody. Substancja spełnia wymagania jeżeli po 15 min. opalizacja roztworu badanego nie jest intensywniejsza niż opalizacja roztworu porównawczego.

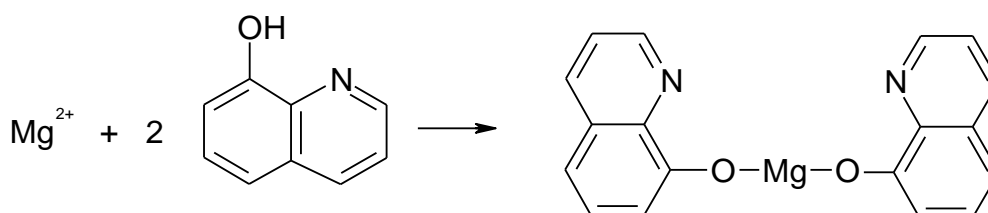
Oznaczenie zanieczyszczeń barem

Próba polega na reakcji jonów baru z jonami siarczanowymi. Ponieważ zawartość zanieczyszczeń jonami baru jest niewielka obserwuje się jedynie zmętnienie, a nie wytrąca się osad.



Oznaczenie zanieczyszczeń magnezem

Reakcja polega na przeprowadzeniu reakcji z hydroksychinoliną w chloroformie i porównaniu powstałego zabarwienia z roztworem wzorcowym magnezu.

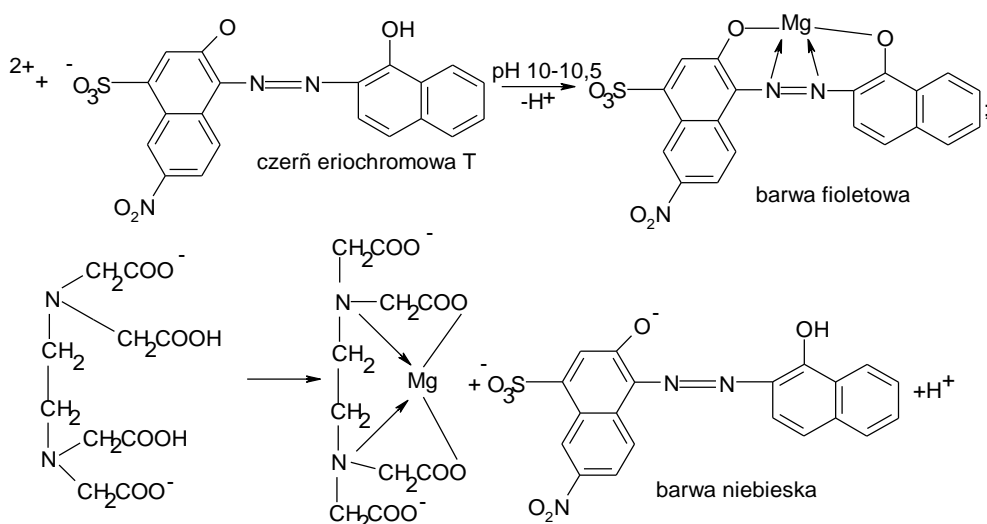


Wykonanie oznaczenia: do 10 mL podanego w monografii roztworu należy dodać 0,1 g tetraboranu disodu. Z badać pH powstałego roztworu. Doprowadzić kwasem solnym (73 g/L) lub roztworem wodorotlenku sodu (85 g/L) do pH 8,8-9,2. Wytrząsać 2 razy, za każdym razem biorąc po 5 mL roztworem hydroksychinoliny (1 g/L) w chloroformie. Do połączonych warstw wodnych dodać 0,4 mL butyloaminy i 0,1 mL trietyloaminy doprowadzając pH do 10,5-11,5. Ponownie wytrząsać 1 min z 4 mL roztworu hydroksychinoliny (1 g/L) w chloroformie. Warstwę chloroformową użyć do badania porównując z roztworem wzorcowym magnezu o stężeniu 10 µg/mL. Należy pobrać do badania 1 mL tego roztworu i uzupełnić wodą do 10 mL. Następnie postępować tak jak z roztworem badanym. Substancja spełnia wymagania jeżeli zabarwienie roztworu badanego nie jest intensywniejsze niż zabarwienie roztworu porównawczego.

Przygotowanie roztworu wzorcowego magnezu o stężeniu 10 µg/mL: rozpuścić 1,01 g siedmiowodnego siarczanu magnezu w 100 mL wody. Następnie bezpośrednio przed użyciem pobrać z tego roztworu 1 mL i uzupełnić wodą do 10 mL i ponownie rozcieńczyć powstały roztwór 10-krotnie.

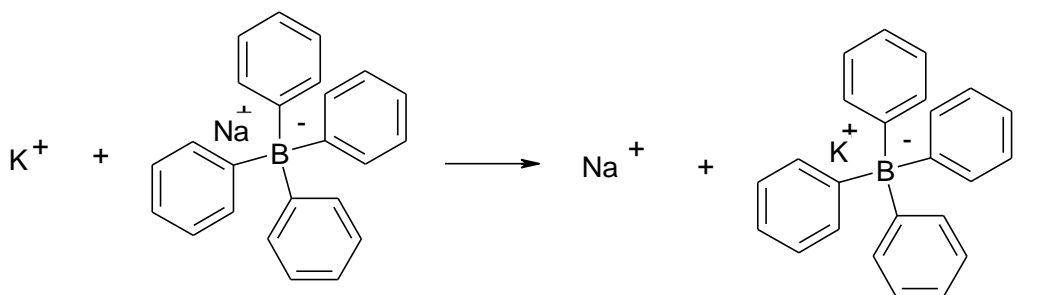
Oznaczenie zanieczyszczenia magnezem i metalami ziem alkalicznych

Oznaczanie polega na wywołaniu reakcji barwnej z czernią eriochromową. Przed dodaniem roztworu substancji badanej należy do 200 mL wody dodać 0,1 g chlorowodoru hydroksyloaminy, 10 ml buforu amonowego o pH 10,0, 1 mL siarczanu cynku (0,1 mol/L) RM i 0,015 g czerni eriochromowej. Po ogrzaniu do temp. 40°C miareczkować edetynianem sodu (0,01 mol/L) RM do zabarwienia niebieskiego. Do tak przygotowanego roztworu należy dodać podanego w monografii roztworu. Jeżeli zabarwienie zmienia się na fioletowe to należy ponownie miareczkować roztworem edetynianu sodu do zmiany zabarwienia na niebieskie. Substancja spełnia wymagania jeżeli dodana ilość zużytego mianowanego roztworu edetynianu sodu nie przekracza ilość podanej w monografii szczegółowej.



Oznaczenie zanieczyszczeń potasem

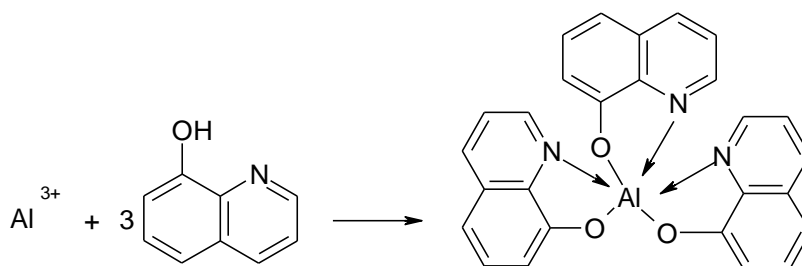
Oznaczanie polega na reakcji jonów potasowych z roztworem tetrafenyloboranu sodu (10 g/L). W związku z tym, że zawartość zanieczyszczenia jonami potasu jest niewielka nie można zaobserwować wytrącania osadu, a jedynie opalizację, którą należy porównać z opalizacją roztworu wzorcowego otrzymanego poprzez zmieszanie 5 mL roztworu wzorcowego potasu o stężeniu 20 µg/mL i 5 mL wody. Substancja spełnia wymagania badania jeżeli opalizacja roztworu badanego po 15 min nie jest intensywniejsza niż opalizacja roztworu porównawczego.



Przygotowanie roztworu wzorcowego potasu o stężeniu 20 $\mu\text{g/mL}$: uzupełnić 0,446 g siarczanu potasu wodą do 100 mL. Bezpośrednio przed użyciem pobrać 1 mL roztworu i uzupełnić do 20 mL i ponownie otrzymany roztwór rozcieńczyć 5-krotnie.

Oznaczenie zanieczyszczenia glinem

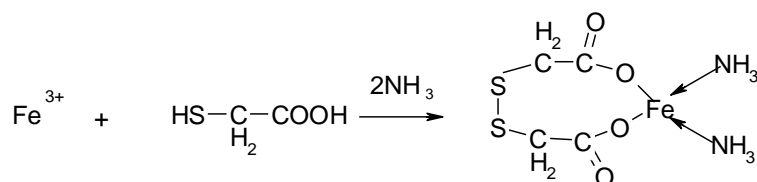
Oznaczenia polega na pomiarze fluorescencji po reakcji jonów glinu z hydroksychinoliną i porównaniu jej z roztworem wzorcowym.



Wykonanie oznaczenia: podaną w monografii ilość substancji należy 3-krotnie wytrząsać w rozdzielaczu z roztworem hydroksychinoliny (5 g/L) w chloroformie, dwukrotnie po 20 mL i raz 10 mL. Połączone warstwy chloroformowe należy uzupełnić chloroformem do 50,0 mL. Należy przygotować w taki sam sposób próbę kontrolną i roztwór porównawczy podany w monografii szczegółowej. Dokonać pomiaru fluorescencji trzech roztworów przy długości fali wzbudzenia 392 nm i długości fali emisji 518 nm. Substancja spełnia wymagania jeżeli fluorescencja roztworu badanego (różnica między natężeniem fluorescencji roztworu badanego i próby kontrolnej) nie jest intensywniejsza niż fluorescencja roztworu porównawczego (różnica natężenia fluorescencji roztworu porównawczego i próby kontrolnej).

Oznaczenia zanieczyszczenia żelazem

Metoda polega na porównaniu różowego zabarwienia powstałego w wyniku reakcji jonów żelaza z kwasem tioglikolowym. Żelazo(III) ulega redukcji do żelaza(II), a kwas tioglikolowy ulega utlenieniu. Po dodaniu amoniaku tworzą kompleks chelatowy o zabarwieniu różowym.

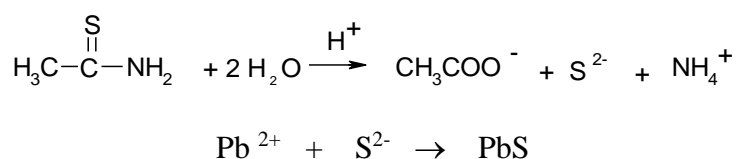


Wykonanie oznaczenia: podaną w monografii ilość substancji uzupełnić wodą do 10 mL. Do tego roztworu dodać 2 mL roztworu kwasu cytrynowego (200 g/L) i 0,1 mL kwasu tioglikolowego. Po wymieszaniu doprowadzić wodorotlenkiem amonowym (170 g/L) do odczynu zasadowego. Tak przygotowany roztwór dopełnić wodą do 20 mL. Powstałe zabarwienie należy porównać z 10 mL roztworu wzorcowego żelaza o stężeniu 1 µg/mL, z którym postępujemy analogicznie jak z roztworem badanym. Substancja spełnia wymagania badania jeżeli zabarwienie roztworu badanego po 5 min. nie jest intensywniejsze niż zabarwienie roztworu porównawczego.

Przygotowanie roztworu wzorcowego żelaza o stężeniu 1 µg/mL: odważyć 0,863 g dwunastowodnego siarczany żelazowoamonowego i uzupełnić kwasem siarkowym (98 g/mL) do 500,0 mL. Bezpośrednio przed użyciem pobrać 1 mL tego roztworu i uzupełnić do 10,0 mL i otrzymany roztwór rozcieńczyć 20-krotnie.

Oznaczenie zanieczyszczenia metalami ciężkimi

Zanieczyszczenia metalami ciężkimi są bardzo rozpowszechnione ze względu na stosowaną aparaturę, technologię produkcji, stosowane katalizatory, środki utleniające lub redukujące. Dlatego też ta próba jest przewidziana dla większości substancji farmakopealnych. W badaniu możemy oznaczyć sumę zanieczyszczeń Pb, Ag, Hg, Cu, Bi, Cd, Co, Ni. Do wykonania analizy używa się wymiennie roztworu amidu kwasu tiooctowego lub roztworu siarczku sodu. W zależności od substancji badanej próbę przeprowadza się w różnych modyfikacjach. Każda z nich wymaga jednak zastosowania roztworów wzorcowych.



Metoda A: przeznaczona jest dla substancji łatwo rozpuszczalnych w wodzie i nie wytrącających osadów po zakwaszeniu.

Wykonanie oznaczenia: 12 mL podanego w monografii szczegółowej roztworu substancji należy porównać z 10 mL roztworu wzorcowego ołowiu o stężeniu 1 µg/mL lub 2 µg/mL, do którego dodano 2 mL podanego w monografii roztworu substancji badanej. Metoda wymaga przygotowania próby kontrolnej składającej się z 10 mL wody i 2 mL roztworu substancji badanej. Do każdego z 3 roztworów należy dodać 2 mL buforu o pH 3,5 i 1,2 mL tioacetamidu lub 0,1 mL roztworu siarczku sodu. Po wymieszaniu porównać zabarwienie po 2 min. Substancja spełnia wymagania jeżeli zabarwienie roztworu badanego nie jest intensywniejsze niż zabarwienie roztworu porównawczego. Próba jest wiarygodna jeżeli

zabarwienie roztworu porównawczego jest intensywniejsze niż zabarwienie roztworu kontrolnego. Jeżeli zabarwienie roztworów jest trudne do oceny można uzyskane roztwory przesączyć przez odpowiednią bibułę i porównać zabarwienie otrzymanych plamek.

Metoda B: przeznaczona jest dla substancji rozpuszczonych w rozpuszczalnikach organicznych np. dioksanie lub acetonie, w których zawartość wody nie przekracza 15%.

Wykonanie oznaczenia: do wykonania badania należy użyć 12 mL roztworu badanego, który należy porównać z 10 mL roztworu wzorcowego ołowiu o stężeniu 1 µg/mL lub 2 µg/mL z dodanymi 2 mL roztworu badanego. Roztwory wzorcowe należy przygotować w rozpuszczalniku, jaki został użyty do sporządzenia roztworu substancji badanej. Należy wykonać próbę kontrolną używając 10 mL takiego samego rozpuszczalnika, jak w przypadku substancji badanej i 2 mL roztworu substancji badanej. Następnie postępować jak w metodzie A.

Metoda C: przeznaczona jest dla związków organicznych, które mogą maskować wynik próby na zawartość metali ciężkich i reakcja musi być poprzedzona mineralizacją związku organicznego (maksymalnie 2 g). W tym celu należy w tyglu krzemionkowym umieścić podaną w monografii ilość substancji badanej z dodatkiem 4 mL roztworu siarczanu magnezu (250 g/L) w kwasie siarkowym (98 g/L). Odparować na łaźni wodnej do sucha, a następnie spalić i wyprażyć w temp. do 800°C. Proces ten nie może przekroczyć 2 h. Pozostałość przemyć 2 porcjami po 5 mL kwasu solnego (73 g/L). Po dodaniu 0,1 mL roztworu fenoloftaleiny dodawać stężonego amoniaku do uzyskania różowego zabarwienia i następnie lodowatego kwasu octowego do odbarwienia i jeszcze 0,5 mL nadmiaru kwasu. Otrzymany roztwór uzupełnić wodą do 20 mL. Przygotować roztwór porównawczy z określonej ilości roztworu wzorcowego ołowiu o stężeniu 10 µg/mL poddanego ww. procedurze. Do 10 mL mieszaniny dodać 2 mL roztworu badanego. Próba kontrolna to mieszanina 10 mL wody i 2 mL roztworu badanego. Do wykonania badania użyć 12 mL roztworu badanego, porównawczego i kontrolnego i postępować dalej jak w metodzie A.

Metoda D: badanie jest poprzedzone mineralizacją substancji z 0,5 g tlenku magnezu w tyglu krzemionkowym w temp. 800°C i dalej postępować jak w metodzie C.

Metoda E: w przypadku gdy dopuszczone zanieczyszczenie graniczne jest bardzo niskie to przewidzianą w monografii ilość substancji rozpuścić w 30 mL wody i przesączyć przez specjalny filtr. Tak samo należy postąpić z roztworem porównawczym jonów ołowiu. Następnie dodać 2 mL buforu o pH 3,5 i 1,2 ml tioacetamidu. Po 10 min przesączyć powtórnie i porównać zabarwienia plamek na bibułach, przez które były sączone roztwór badany i roztwór porównawczy.

Metoda F: oznaczanie jest poprzedzone mineralizacją przeprowadzoną w kolbie za pomocą mieszaniny stężonego kwasu siarkowego i azotowego dodawanych kilkakrotnie. Jeżeli roztwór pozostanie żółtawy ogrzewanie należy kontynuować ze stężonym nadtlenkiem wodoru. Po uzyskaniu bezbarwnego roztworu doprowadzić stężonym wodorotlenkiem amonowym do pH 3,0-4,0. Dodać buforu o pH 3,5 i 1,2 mL tioacetamidu i uzupełnić wodą do

50 mL. Roztwór porównawczy i kontrolny przygotować w ten sam sposób i w tym samym czasie używając odpowiednio roztworu wzorcowego jonów ołowiu ($10 \mu\text{g/mL}$) i wody zamiast roztworu substancji badanej. Jeżeli porównanie zabarwienia jest trudne do oceny roztwory można przesączyć przez odpowiednią bibułę i porównać zabarwienia uzyskanych plamek.

Metoda G: substancja badana w ilości nie większej niż 0,5 g poddana jest wysokociśnieniowej mineralizacji przy użyciu mieszaniny stężonych kwasów azotowego i siarkowego oraz stężonego nadtlenku wodoru. Po mineralizacji postępować jak w metodzie F.

Metoda H: oznaczenie jest poprzedzone rozpuszczeniem substancji badanej w określonym rozpuszczalniku lub mieszaninie rozpuszczalników. Dotyczy to również roztworu porównawczego i dalej postępujemy jak w metodzie A, nie porównując jednak zabarwienia roztworu ale zabarwienie plamek powstałych po sączeniu roztworu badanego, porównawczego i kontrolnego.

Przygotowanie roztworu porównawczego jonów ołowiu o stężeniu $10 \mu\text{g/mL}$: odważyć 0,400 g azotanu ołowiu i uzupełnić wodą do 250,0 mL. Bezpośrednio przed użyciem pobrać

1 mL i uzupełnić wodą do 10 mL i tak uzyskany roztwór ponownie rozcieńczyć 10-krotnie wodą.

Przygotowanie roztworu porównawczego jonów ołowiu o stężeniu $2 \mu\text{g/mL}$: bezpośrednio przed użyciem rozcieńczyć 5-krotnie wyżej opisany roztwór porównawczy jonów ołowiu o stężeniu $10 \mu\text{g/mL}$.

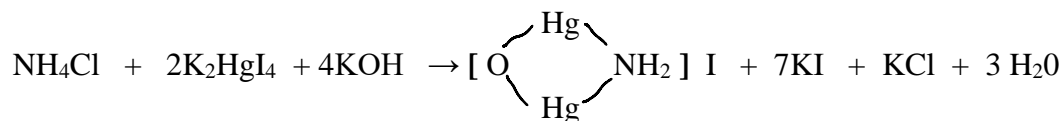
Przygotowanie roztworu porównawczego jonów ołowiu o stężeniu $1 \mu\text{g/mL}$: bezpośrednio przed użyciem rozcieńczyć 10-krotnie roztwór porównawczy jonów ołowiu o stężeniu $10 \mu\text{g/mL}$.

Oznaczenie zanieczyszczeń pozostałości metali użytych jako katalizatory lub odczynniki

W badaniu tym ze względu na bardzo dużą różnorodność metali, które mogą podlegać ocenie nie podano jednej metody pomiaru. Można wykorzystać każdą metodę pod warunkiem udokumentowania jej przydatności dla danej próbki i aparatu. Stąd w monografii umieszczono specyficzną i walidowaną metodę oceny pozostałości metali. Metodę dobiera się biorąc pod uwagę dostępność odpowiednich monografii, a przy ich braku analizując właściwości fizykochemiczne próbki i dokonując wyboru na tej podstawie. Przy braku metody opisanej w monografii dopuszczone jest opracowanie własnej metody przy użyciu roztworów wzorcowych, ale musi być ona walidowana w pełnym zakresie. Wybór metody analitycznej uzależniony jest również od matrycy. Wybrana technika musi charakteryzować się dużą specyficznością, dokładnością, powtarzalnością i granicą oznaczalności poniżej akceptowalnego najniższego stężenia.

Oznaczenie zanieczyszczeń jonami amonowymi

Oznaczenie polega na reakcji jonów amonowych z tetrajodortęcianem potasu.



Wykonanie oznaczenia: podaną w monografii ilość substancji badanej rozpuścić w 14 mL wody, doprowadzonej do odczynu zasadowego roztworem wodorotlenku sodu (85 g/L) i uzupełnić wodą do 15 mL. Przeprowadzić reakcję z 0,3 mL tetrajodortęcianem potasu i porównać z roztworem wzorcowym przygotowanym przez zmieszanie 10 mL roztworu jonów amonowych o stężeniu 1 µg/mL z 5 mL wody i 0,3 mL tetrajodortęcianu potasu. Substancja spełnia wymagania jeżeli po 5 min żółte zabarwienie roztworu badanego nie jest intensywniejsze niż zabarwienie roztworu porównawczego.

Dla wybranych związków możliwa jest druga metoda oznaczania po dodaniu ciężkiego tlenku magnezu i ogrzewaniu w temp. 40°C z umieszczonym u wylotu próbówki papierkiem srebromanganowym. Oznaczenie również wymaga zastosowania roztworu porównawczego, w przypadku którego postępujemy tak samo jak z roztworem badanym. Substancja spełnia wymagania badania jeżeli szare zabarwienie papierka srebrowo-manganowego, otrzymane dla substancji badanej, nie jest intensywniejsze niż w przypadku roztworu porównawczego.

Roztwór wzorcowy dla jonów amonowych o stężeniu 1 µg/mL: odważyć 0,741 g chlorku amonowego i rozpuścić w 1000 mL wody. Bezpośrednio przed użyciem pobrać 1 mL i uzupełnić wodą do 100 mL, i otrzymany roztwór ponownie rozcieńczyć 2,5-krotnie.

Oznaczenie zanieczyszczenia chlorkami

Próba polega na przeprowadzeniu strącania jonów chlorkowych jonami srebra w rozcieńczonym kwasie azotowym. Ponieważ stężenie jonów chlorkowych jest bardzo małe to zaobserwować można jedynie opalizację a nie osad. Probówki należy obserwować z boku na czarnym tle po 5 min bez dostępu światła.



Wykonanie oznaczenia: do 15 mL roztworu przygotowanego z określonej w monografii ilości substancji badanej, dodać 1 mL kwasu azotowego (125 g/L) i 1 mL roztworu azotanu srebra (17 g/L). Równolegle należy przygotować roztwór porównawczy, mieszając 10 mL roztworu wzorcowego o stężeniu 5 µg/mL i 5 mL wody i postępować z nim tak jak z roztworem badanym. Substancja spełnia wymagania jeżeli opalizacja roztworu badanego nie jest intensywniejsza od opalizacji roztworu porównawczego.

Przygotowanie roztworu wzorcowego chlorków o stężeniu 5 µg/mL: uzupełnić 0,824 g chlorku sodu wodą do 1000,0 mL. Bezpośrednio przed użyciem roztwór rozcieńczyć 100-krotnie.

Inaczej przeprowadza się próbę oznaczania zanieczyszczeń chlorkami farmakopealnych bromków.

W przypadku soli bromków próba polega na utlenieniu bromków do wolnego bromu perhydrolem. W tych warunkach jony chlorkowe nie ulegają utlenieniu i można je oznaczyć metodą argentometryczną.

Wykonanie oznaczenia: 1,000 g substancji rozpuścić w 20 mL kwasu azotowego (125 g/L), dodać 5 mL stężonego nadtlenku wodoru i ogrzać na łaźni wodnej do zaniku żółtego zabarwienia wydzielonego bromu. Przemyć ścianki kolby porcjami wody. Po ochłodzeniu dopełnić wodą do 50 mL i dodać 5,0 mL roztworu azotanu srebra (0,1 mol/L) RM i 1 mL ftalanu dibutyłu. Nadmiar mianowanego roztworu azotanu srebra odmiareczkować roztworem tiocyjanianu amonowego (0,1 mol/L) RM używając 5 mL roztworu siarczanu żelazowo-amonowego (100 g/L).

Oznaczenie zanieczyszczenia fosforanami

Badanie polega na porównaniu zabarwienia po reakcji jonów fosforanowych z molibdenianem amonowym i chlorkiem cyny z roztworem wzorcowym.



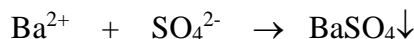
W pierwszym etapie powstaje fosfomolibdenian amonowy, w którym Mo jest na VI stopniu utlenienia. Pod wpływem chlorku cyny(II) ulega on redukcji na IV stopień utlenienia i powstaje błękit fosfomolibdenowy o przybliżonym wzorze $(\text{NH}_4)_3\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_7)_4$. Zabarwienie roztworu zmienia się z bezbarwnego na niebieskie.

Wykonanie oznaczenia: podaną w monografii ilość substancji badanej rozpuścić w określonej ilości roztworu i dopełnić wodą do 100 mL, jeżeli to konieczne zobojętnić. Dodać 4 mL roztworu molibdenianu amonowego w kwasie siarkowym (5 g/L). Po wytrząśnięciu dodać 0,1 mL roztworu chlorku cyny(II). Substancja spełnia wymagania jeżeli zabarwienie roztworu badanego nie jest intensywniejsze niż zabarwienie roztworu porównawczego przygotowanego z roztworu wzorcowego o stężeniu 5 µg/mL i dopełnionego wodą do 100 mL, do którego dodano takie same odczynniki jak do próby badanej. Zabarwienie porównuje się w warstwie 20 mL po 10 min.

Przygotowanie roztworu wzorcowego jonów fosforanowych o stężeniu 5 µg/mL: uzupełnić 0,716 g diwodorofosforanu potasu wodą do 1000,0 mL. Bezpośrednio przed użyciem pobrać 1 mL i uzupełnić wodą do 100,0 mL.

Oznaczenie zanieczyszczeń siarczanami

Metoda polega na wytrącaniu bardzo trudno rozpuszczalnego osadu z jonami baru. W związku z tym, że zawartość jonów siarczanowych w próbce jest niewielka obserwuje się jedynie opalizację.



Wykonanie oznaczenia: do 15 mL podanego w monografii roztworu badanego dodać 2,5 mL mieszaniny powstałej po zmieszaniu 3,5 mL roztworu chlorku baru (250 g/L) i 4,5 mL roztworu wzorcowego siarczanów o stężeniu 10 µg/mL, (wytrząsnąć i odczekać 1 min). Dodać 0,5 mL kwasu octowego (310 g/L). Substancja spełnia wymagania badania jeżeli opalizacja roztworu badanego porównywana po 5 min nie jest intensywniejsza niż opalizacja 15 mL roztworu porównawczego przygotowanego w taki sam sposób z roztworu wzorcowego siarczanów o stężeniu 10 µg/mL.

Przygotowanie roztworu wzorcowego siarczanów o stężeniu 10 µg/mL: uzupełnić 0,181 g siarczanu potasu wodą do 100,0 mL. Bezpośrednio przed użyciem pobrać 1 mL tego roztworu i uzupełnić wodą do 100,0 mL.

Oznaczenie zanieczyszczeń substancjami pokrewnymi

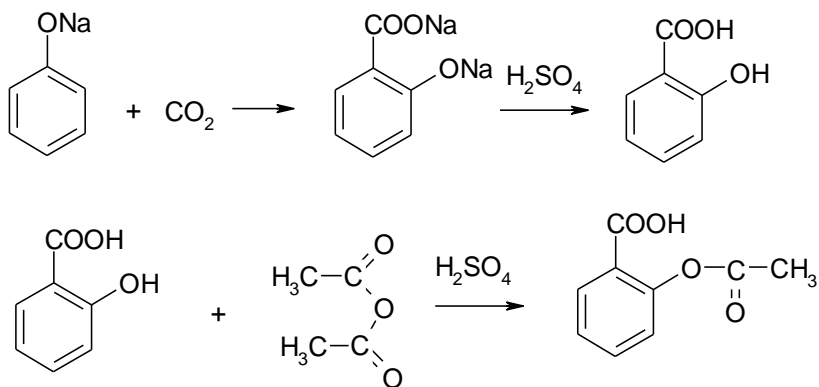
Należą do nich zarówno zanieczyszczenia określone indywidualnie jak i nieokreślone indywidualnie. Do ich identyfikacji i oznaczania ilościowego niezbędne są metody instrumentalne i posiadanie wzorców do potwierdzania tożsamości. Są to głównie substancje organiczne bezpośrednio związane z substancją badaną (półprodukty, produkty uboczne lub produkty rozkładu). Do analizy substancji pokrewnych w większości wykorzystuje się różne metody chromatograficzne tzn. chromatografia cienkowarstwowa, wysokosprawna chromatografia cieczowa i chromatografia gazowa.

Przykłady zanieczyszczeń substancjami pokrewnymi:

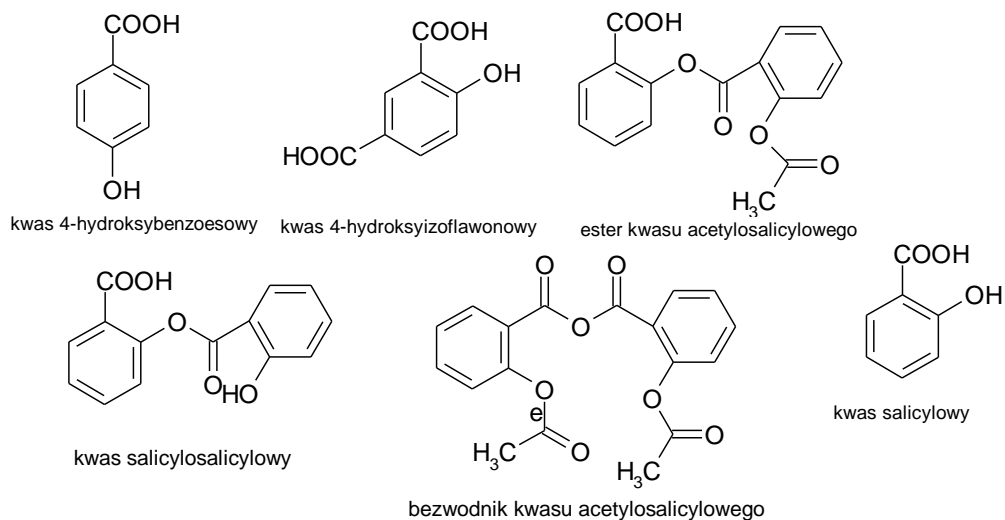
Acidum acetylosalicylicum

Przeprowadza się próby na zanieczyszczenia indywidualnie określone metodą chromatografii cieczowej.

Schemat syntezy kwasu acetylosalicylowego



Mogą powstać następujące uboczne syntezы:



Kwas salicylowy jest również jednym z produktów rozkładu kwasu acetylosalicylowego.

Acidum lacticum

Preparat jest otrzymywany w procesie fermentacji glukozy z wykorzystaniem szczepów bakterii *Streptococcus lacticus* lub *Lactobacillus*. Przy niewielkiej zmianie warunków drobnoustroje mogą także produkować kwas szczawiowy, winowy, cytrynowy oraz glicerol i mannitol.

Preparaty do badania czystości

Ammonii Chloridum

Roztwór podstawowy – rozpuścić 10,0 g substancji badanej w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

Kwasowość i zasadowość – 10 ml roztworu podstawowego miareczkować kwasem solnym (0,01 mol/L) RM lub wodorotlenkiem sodu (0,01 mol/L) RM wobec czerwieni metylowej. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie może przekraczać 0,5 mL.

Bromki i jodki – do 10 ml roztworu podstawowego dodać 0,1 mL kwasu solnego (73 g/L) i 0,05 mL roztworu chloraminy (20 g/L) po upływie 1 min dodać chloroformu i wytrząsnąć. Nie stwierdza się zanieczyszczeń bromkami i jodkami jeżeli warstwa chloroformowa (dolna) pozostaje bezbarwna.

Siarczany – nie więcej niż 0,15 mg/g. Do badania użyć 10 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Wapń – nie więcej niż 0,2 mg/g. Do badania użyć 5 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Calcii Carbonas

Roztwór podstawowy – rozpuścić w zlewce 5,0 g substancji w 80 mL kwasu octowego (115 g/L) po ustaniu wydzielania się dwutlenku węgla utrzymywać we wrzeniu 2 min. Po ochłodzeniu przenieść ilościowo do kolby miarowej i uzupełnić tym samym kwasem do 100 mL. Jeżeli zaobserwujemy jakąkolwiek pozostałość, przesączyć całość.

Chlorki – nie więcej niż 0,33 mg/g. Do wykonania badania użyć 3 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,25%. Do wykonania badania użyć 1,2 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Bar – do 10 ml roztworu podstawowego dodać 10 mL roztworu siarczynu wapnia (50 g/L) po 15 min zbadać opalizację i porównać z roztworem, do którego zamiast roztworu siarczynu wapnia dodano 10 mL wody.

Calcii Chloridum Dihydricum

Roztwór podstawowy – rozpuścić 10,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i jego zabarwienie nie jest intensywniejsze niż zabarwienie roztworu barwnego Ż₆.

Kwasowość lub zasadowość – do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Miareczkować kwasem solnym (0,01 mol/L) RM lub roztworem wodorotlenku sodu (0,01 mol/L) RM wobec 0,1 mL fenoloftaleiny. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie przekracza 0,2 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,3 mg/g. Do wykonania badania użyć 5 mL roztworu podstawowego, uzupełnionego wodą do 15 mL.

Glin – do 10 mL roztworu podstawowego dodać 2 mL roztworu chlorku amonowego (107 g/L) i 1 mL wodorotlenku amonowego (100 g/L) i doprowadzić do wrzenia. Substancja spełnia wymagania jeżeli nie powstaje osad lub zmętnienie.

Bar - do 10 mL roztworu podstawowego dodać 1 mL roztworu siarczanu wapnia (50 g/L) po 15 min zbadać opalizację i porównać z roztworem, do którego zamiast roztworu siarczanu wapnia dodano 1 mL wody.

Calcii Lactas Anhydricus

Roztwór podstawowy – rozpuścić 5,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla. Ogrzać jeżeli to konieczne, ochłodzić i uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – opalizacja roztworu podstawowego nie jest większa niż opalizacja mieszaniny porównawczej II. Zabarwienie nie jest intensywniejsze niż zabarwienie roztworu porównawczego BŻ₆.

Kwasowość lub zasadowość – do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Miareczkować kwasem solnym (0,01 mol/L) RM lub roztworem wodorotlenku sodu (0,01 mol/L) RM wobec 0,1 mL fenoloftaleiny. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie przekracza odpowiednio 0,5 mL i 2,0 mL.

Chlorki – nie więcej niż 0,2 mg/g. Do wykonania badania użyć 5 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,4 mg/g. Do wykonania badania użyć 7,5 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Bar – do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Dodać do tego roztworu 1 mL roztworu siarczanu wapnia (50 g/L), pozostawić na 15 min i porównać z roztworem zawierającym zamiast roztworu siarczanu wapnia 1 mL wody. Opalizacja roztworu badanego nie jest większa niż opalizacja roztworu porównawczego.

Kalii Bromidum

Roztwór podstawowy – rozpuścić 10,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

Kwasowość lub zasadowość – do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Miareczkować kwasem solnym 0,01 mol/L RM lub roztworem wodorotlenku sodu 0,01 mol/L RM wobec błękitu bromotymolowego. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie przekracza 0,5 mL.

Bromiany – do 10 mL roztworu podstawowego dodać 1 mL roztworu skrobi, 0,1 mL roztworu jodku potasu (100 g/L) i 0,25 mL kwasu siarkowego (0,5 mol/L). pozostawić na 5 min bez dostępu światła. Nie stwierdza się zanieczyszczenia bromianami jeżeli nie powstanie fioletowe zabarwienie.

Jodki – do 5 mL roztworu podstawowego dodać 0,15 mL roztworu chlorku żelaza(III) (105 g/L) i 2 mL chlorku metylenu. Nie stwierdza się zanieczyszczenia jodkami jeżeli po wytrząśnięciu dolna warstwa jest bezbarwna.

Kalii Carbonas

Roztwór podstawowy – rozpuścić w zlewce 10,0 g substancji w 25 mL wody i następnie dodać 14 mL stężonego kwasu solnego. Po ustaniu wydzielania dwutlenku węgla roztwór utrzymywać we wrzeniu kilka minut. Ochłodzić, przenieść ilościowo do kolby miarowej i uzupełnić wodą do 50 mL.

Wygląd roztworu – opalizacja roztworu podstawowego nie jest większa niż opalizacja mieszaniny porównawczej II, a zabarwienie nie jest intensywniejsze niż zabarwienie roztworu porównawczego \check{Z}_6 .

Chlorki – nie więcej niż 0,1 mg/g. Rozpuścić 0,5 g substancji w 10 mL wody i dodać 1 mL kwasu azotowego (904 g/L). Ogrzać do wrzenia, ochłodzić, dodać 5 mL kwasu azotowego (125 g/L) i uzupełnić wodą do 15 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,1 mg/g. Do wykonania badania użyć 7,5 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Wapń – nie więcej niż 0,1 mg/g. Do wykonania badania użyć 5 mL roztworu podstawowego. Dodać 1 mL wodorotlenku amonowego (227 g/L). Ogrzać do wrzenia i po ochłodzeniu uzupełnić wodą do 15 mL.

Kalii Chloridum

Roztwór podstawowy – rozpuścić 10,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

Kwasowość lub zasadowość – do wykonania badania użyć 50 mL roztworu podstawowego. Miareczkować kwasem solnym 0,01 mol/L RM lub roztworem wodorotlenku sodu 0,01 mol/L wobec błękitu bromotymolowego. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie przekracza 0,5 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,3 mg/g. Do wykonania badania użyć 5 mL roztworu podstawowego i dopełnić wodą destylowaną do 15 mL.

Bar – do 5 mL roztworu podstawowego dodać 5 mL wody destylowanej, 1 mL kwasu siarkowego (98 g/L). Substancja spełnia wymagania badania, jeżeli opalizacja roztworu badanego, obserwowana po 15 minutach nie jest intensywniejsza niż mieszaniny 5 mL roztworu podstawowego i 6 mL wody destylowanej.

Kalii Dihydrogenophosphas

Roztwór podstawowy – rozpuścić 10,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i dopełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

pH- od 4,2-4,4,5. Do wykonania badania użyć 5 mL roztworu podstawowego i 5 mL wody pozbawionej dwutlenku węgla.

Substancje redukujące – Do 5 mL roztworu podstawowego dodać 5 mL rozcieńczonego kwasu siarkowego (98 g/L) i 0,25 mL roztworu nadmanganianu potasu (0,02 mol/L). Po ogrzaniu 5 min w łaźni wodnej zabarwienie nie znika całkowicie.

Chlorki – nie więcej niż 0,2 mg/g. Do wykonania badania użyć 2,5 mL roztworu podstawowego, uzupełnionego wodą do 15 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,3 mg/g. Do wykonania badania użyć 5 mL roztworu podstawowego, dodać 0,5 mL stężonego kwasu solnego i uzupełnić wodą do 15 mL.

Kalii Nitras

Roztwór podstawowy – rozpuścić 10,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i dopełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

Kwasowość lub zasadowość – do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Miareczkować kwasem solnym (0,01 mol/L) RM lub roztworem wodorotlenku sodu (0,01 mol/L) RM wobec błękitu bromotymolowego. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie przekracza 0,5 mL.

Chlorki – nie więcej niż 0,02 mg/g. Do wykonania badania użyć 2,5 g substancji uzupełnionej wodą do 15 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,15 mg/g. Do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Jony amonowe – nie więcej niż 0,1 mg/g. Do wykonania badania użyć 1 mL roztworu podstawowego.

Wapń – nie więcej niż 0,1 mg/g. Do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Magnesii sulfas heptahydricus

Roztwór podstawowy – rozpuścić 5,0 g substancji w wodzie i uzupełnić do 50 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

Kwasowość lub zasadowość – do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Miareczkować kwasem solnym (0,01 mol/L) RM lub roztworem wodorotlenku sodu (0,01 mol/L) RM wobec 0,05 mL roztworu czerwieni fenolowej. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie przekracza 0,2 mL.

Chlorki – nie więcej niż 0,3 mg/g. Do wykonania badania użyć 1,7 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Natrii Acetas Trihydricus

Roztwór podstawowy – rozpuścić 10,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

pH – do wykonania badania użyć 5 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą pozbawioną dwutlenku węgla do 10 mL. pH mieści się w granicach 7,5 -9,0.

Substancje redukujące – 5,0 g substancji rozpuścić w 50 mL wody. Dodać 5 mL kwasu siarkowego (98 g/L) i 0,5 mL roztworu nadmanganianu potasu (0,002 mol/L) RM. Obserwować roztwór przez 1 h. Roztwór pozostaje różowy. Wykonać próbę porównawczą przygotowaną w taki sam sposób bez substancji badanej.

Chlorki – nie więcej niż 0,2 mg/g. Do wykonania badania użyć 2,5 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,2 mg/g. Do wykonania badania użyć 7,5 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Natrii Bromidum

Roztwór podstawowy – rozpuścić 10,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

Kwasowość lub zasadowość – do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Miareczkować kwasem solnym (0,01 mol/L) RM lub roztworem wodorotlenku sodu (0,01 mol/L) RM wobec błękitu bromotymolowego. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie przekracza 0,5 mL.

Bromiany – do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Dodać 1 mL skrobi i 0,1 mL roztworu jodku potasu (100 g/L) i 0,25 mL kwasu siarkowego (0,5 mol/L). Odstawić na 5 min, chroniąc od światła. Nie stwierdza się zanieczyszczenia bromkami, jeżeli nie pojawia się fioletowe zabarwienie.

Jodki – Do wykonania badania użyć 5 mL roztworu podstawowego. Dodać 0,15 mL FeCl_3 (105 g/L) i 2 ml chlorku metylenu. Nie stwierdza się zanieczyszczenia jodkami, jeżeli po wytrąsnięciu i odstawieniu do rozdzielenia się warstw dolna pozostaje bezbarwna.

Natrii Chloridum

Roztwór podstawowy – rozpuścić 20,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

Kwasowość lub zasadowość – do wykonania badania użyć 20 mL roztworu podstawowego. Miareczkować kwasem solnym 0,01 (mol/L) RM lub roztworem wodorotlenku sodu (0,01 mol/L) RM wobec błękitu bromotymolowego. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie przekracza 0,5 mL.

Fosforany – nie więcej niż 0,025 mg/g. Do wykonania badania użyć 2 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 100 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,2 mg/g. Do wykonania badania użyć 7,5 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 30 mL.

Bar – do wykonania badania użyć 5 mL roztworu podstawowego. Dodać 5 mL wody i 2 mL kwasu siarkowego (98 g/L). Zbadać opalizację po 2h, porównując z mieszaniną 5 mL roztworu podstawowego i 7 mL wody.

Natrii Citras

Roztwór podstawowy – rozpuścić 10,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

Kwasowość lub zasadowość – do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Miareczkować kwasem solnym 0,1 mol/L RM lub roztworem wodorotlenku sodu 0,1 mol/L RM wobec fenoloftaleiny. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie przekracza 0,2 mL.

Chlorki – nie więcej niż 0,05 mg/g. Do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,15 mg/g. Do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Dodać 2 mL kwasu solnego (105 g/L) i uzupełnić wodą do 15 mL.

Natrii Hydrogenocarbonas

Roztwór podstawowy – rozpuścić 5,0 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

Węglany – pH roztworu podstawowego jest nie wyższe niż 8,6.

Chlorki – nie więcej niż 0,15 mg/g. Do wykonania badania użyć 7 mL roztworu podstawowego. Dodać 2 mL kwasu azotowego (904 g/L) i uzupełnić wodą do 15 mL.

Siarczany – nie więcej niż 0,15 mg/g. Odważyć 1 g substancji i rozpuścić w 10 ml wody. Dodawać kwas solny (425 g/L) do zobojętnienia i dodatkowo 1 mL nadmiaru. Tak otrzymany roztwór uzupełnić wodą do 15 mL.

Wapń – nie więcej niż 0,1 mg/g. Odważyć 1,0 g substancji i zawiesić w 10 mL wody. Dodać kwasu solnego (425 g/L) do zobojętnienia i uzupełnić wodą do 15 mL.

Natrii Sulfas Anhydricus

Roztwór podstawowy – rozpuścić 2,2 g substancji w wodzie pozbawionej dwutlenku węgla i uzupełnić do 100 mL.

Wygląd roztworu – roztwór podstawowy jest przezroczysty i bezbarwny.

Kwasowość lub zasadowość – do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego. Miareczkować kwasem solnym 0,01 mol/L RM lub roztworem wodorotlenku sodu 0,01 mol/L RM wobec błękitu bromotymolowego. Objętość zużytego do miareczkowania titranta nie przekracza 0,5 mL.

Chlorki – nie więcej niż 0,45 mg/g. Do wykonania badania użyć 5 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

Wapń – nie więcej niż 0,45 mg/g. Do wykonania badania użyć 10 mL roztworu podstawowego uzupełnionego wodą do 15 mL.

LITERATURA

1. Farmakopea Polska XII,
2. Zając M., Jelińska A., Muszalska I., Nogowska M., Stanisław B., Ocena Jakości Substancji leczniczych i preparatów farmaceutycznych według wymagań farmakopealnych i ICH, Wydawnictwo Kontekst, Poznań 2000r.,
3. ICH Q2 Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology,
4. ICH Q3A Impurities in New Drug Substances,
5. ICH Q3B Impurities in New Drug Products,
6. ICH Q3C Impurities: Guideline for Residual Solvents,
7. ICH Q3D Guideline For Elemental Impurities.

Dr Dorota Marszałek
(2022 r.)